Р. БЛОК и Д. БОЛЛИНГ

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

И * Л
Издательство
иностранной
литературы
*

THE AMINO ACID COMPOSITION OF PROTEINS AND FOODS

ANALYTICAL METHODS AND RESULTS

Second Printing

by

R. J. BLOCK and D. BOLLING

U.S.A.
1947

Р. Блок и Д. Боллинг

ВРАЧ

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Перевод с английского
Е. Д. КАВЕРЗНЕВОЙ
и М. М. БОТВИНИК

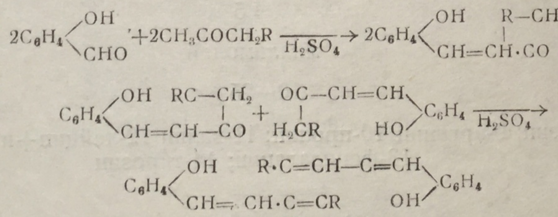
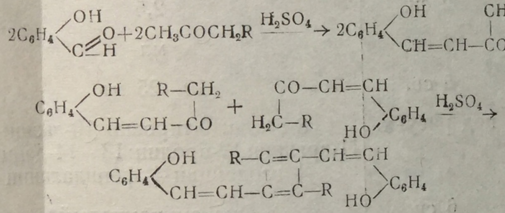
Под редакцией
проф. Н. И. ГАВРИЛОВА

1949
Издательство
ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
Москва

Страница	Строка	Напечатано
317	10 св.	гемоглобин сыворотк
320	3 св.	—
343	2 сн.	200 *мл*
346	11 св.	8,6
352	21 св.	0,1%
362	10 св.	10%
362	2 сн.	2,5
384	2 сн.	мл
396	5 св.	10—25 мл
397	под рисунк.	8-валин; 9-тирозин 10-ли 11-аргинин 12-пролин; 13 – 14- + изолейцин + фенилала
437	6 сн.	„Оксиаминокислый“
444	7 сн.	в виде карбата
456	9 сн.	ферменте, шелком
456	25 сн.	„Афиенген“
458	23 сн.	гемоцистина

точно изложены также некоторые общие методы, нашедшие за последнее время большое распрсстранение, как например, хроматографический и изотопный анализ аминокислотных смесей.

СПИСОК ОПЕЧАТОК

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
9	в примеч.	присущее авторам	присущее целому ряду американских авторов
131	12 св.	Найт	Росс
145	1 сн.	5,1	5,5
173	загол. к таб.	(кроме зерна)	(кроме зеина)
212	1 сн.	KH_2PO_4	KH_2PO_2
263	22 сн.	образовавшейся из серина, формальдегид	образовавшийся из серина формальдегид
284	формулы:		
289	20 сн.	0,2—0,5	0,2—5,0
290	2 сн.	HCl	NaOH
291	2 св.	окраску	окраску со светофильтром 500 μ
291	20 св.	Вашингтон).	Вашингтон ДС 8014). См. табл. на стр. 292
300	12 св.	глобулин хлопковых семян	глобулин кокосового ореха

Зак. 4624.

Продолжение

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
317	10 св.	гемоглобин сыворотки	глобулин сыворотки
320	3 св.	—	Вирус табачный
343	2 сн.	200 *мл*	20 *мл*
346	11 св.	8,6	18,6
352	21 св.	0,1%	1,0%
362	10 св.	10%	10 N
362	2 сн.	2,5	4,5
384	2 сн.	мл	миллимолей
396	5 св.	10—25 мл	10—25 μ*л*
397	под рисунк.	8-валин; 9-тирозин 10-лизин; 11-аргинин 12-пролин; 13 – 14-лейцин+ + изолейцин + фенилаланин	8-лизин; 9-аргинин 10-пролин; 11-валин 12-лейцин+изолейцин; 13-фенилаланин; 14-тирозин
437	6 сн.	„Оксиаминокислый“	„Оксиаминокислоты“
444	7 сн.	в виде карбата	в виде карбамата
456	9 сн.	ферменте, шелком	ферменте желтом
456	25 сн.	„Афиенген“	„Аргинин“
458	23 сн.	гемоцистина	гомоцистина

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Предисловие редактора 5
Предисловие автора 7
Введение 9

Глава I. ДИАМИНОКИСЛОТЫ: АРГИНИН, ГИСТИДИН, ЛИЗИН, ОКСИЛИЗИН И ЦИТРУЛИН 13

Раздел 1. Выделение основных аминокислот 13
Раздел 2. Прямое определение аргинина 45
Раздел 3. Прямое определение гистидина 54
Раздел 4. Прямое определение лизина 59
Раздел 5. Определение оксилизина 61
Раздел 6. Определение цитрулина 63
Раздел 7. Содержание основных аминокислот в белках 64

Глава II. АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ: ТИРОЗИН, ТРИПТОФАН, ФЕНИЛАЛАНИН, ДИИОДТИРОЗИН И ТИРОКСИН 107

Раздел 1. Гидролиз 107
Раздел 2. Определение тирозина 111
Раздел 3. Определение триптофана 114
Раздел 4. Определение тирозина и триптофана 123
Раздел 5. Определение фенилаланина 132
Раздел 6. Химические методы определения диоксифенилаланина, дииодтирозина и тироксина 136
Раздел 7. Содержание ароматических аминокислот в белках . . . 137

Глава III. СЕРУСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ: ЦИСТИН, ЦИСТЕИН И МЕТИОНИН 185

Раздел 1. Гидролиз 185
Раздел 2. Определение цистина и цистеина 188
Раздел 3. Определение метионина и гомоцистина 211
Раздел 4. Сера и серусодержащие аминокислоты в белках . . . 218

Глава IV. β-ОКСИАМИНОКИСЛОТЫ: СЕРИН И ТРЕОНИН 259

Раздел 1. Гидролиз 259
Раздел 2. Определение треонина 260
Раздел 3. Определение серина 266
Раздел 4. Содержание β-оксиаминокислот в белках 269

Стр.

Глава V. „Лейцины“: лейцин, изолейцин и валин 275

Раздел 1. Введение 275
Раздел 2. Определение лейцина, изолейцина и валина 276
Раздел 3. Содержание лейцина, изолейцина и валина в различных белках 293

Глава VI. Дикарбоновые аминокислоты: аспарагиновая и глютаминовая кислоты 303

Раздел 1. Гидролиз 303
Раздел 2. Аспарагиновая и глютаминовая кислоты 304
Раздел 3. Определение глютаминовой кислоты 309
Раздел 4. Определение аспарагиновой кислоты 314
Раздел 5. Аналитические результаты 316

Глава VII. Гликоколь и аланин 322

Раздел 1. Определение гликоколя 322
Раздел 2. Определение аланина 328
Раздел 3. Аналитические данные 332

Глава VIII. Пролин и оксипролин 338

Раздел 1. Выделение и определение пролина и оксипролина . . 338
Раздел 2. Аналитические результаты 345

Глава IX. Общие методы исследования аминокислот 350

Раздел 1. Гидролиз и приготовление образцов для анализа . . . 350
Раздел 2. Разделение аминокислот 353
Раздел 3. Реакции на углеводы 364

Глава X. Сводные таблицы 366

Глава XI. Потребность человека в незаменимых аминокислотах 376

Примечания переводчика 379
Примечания редактора русского перевода 380
Литература 414
Именной указатель 429
Предметный указатель 436

ПРЕДИСЛОВИЕ РЕДАКТОРА

В настоящее время аминокислотный анализ белков, белковых пищевых веществ и органов имеет чрезвычайно большое значение, как метод исследования. Это обстоятельство заставило нас перевести предлагаемую книгу. На фоне весьма убогой по содержанию американской литературы по белкам книга Блока и Боллинг выгодно выделяется своей содержательностью и практичностью.

Книга не является ни компиляцией, ни узким обзором американской литературы, что часто бывает характерно для многих подобных американских произведений; она трактует аналитические методы определения аминокислот, в большинстве случаев проверенные, а зачастую и разработанные в лаборатории авторов. Обзор химических методов анализа отдельных аминокислот составлен достаточно полно, причем авторы делают очень ценную попытку подойти критически к каждому методу и выделяют при этом наиболее надежные.

Описание методов, проверенных и дополненных авторами и другими исследователями, проведено настолько подробно, что можно непосредственно пользоваться прописями для производства анализов.

Наряду с несомненными достоинствами необходимо отметить и недостатки книги Блока и Боллинг. Прежде всего следует подчеркнуть, что авторы игнорируют произведения авторитетных советских ученых, основанные на широкой экспериментальной практике; особо заслуживают упоминания работы Н. Д. Прянишникова, Б. И. Збарского, Е. Д. Каверзневой. Во-вторых, в книге не приводятся подробно методы систематического аминокислотного анализа белков, хотя именно эти методы для научной характеристики белков имеют первенствующее значение. Систематический аминокислотный анализ белков освещен в книгах: П. С. Садиков — «Белковый практикум» (Гос. Ленингр. университет, Лгд, 1938) и в 4-м томе Губена «Методы органической химии» (Госхимиздат, 1949 г.), где глава об аминокислотах, полипептидах и дикетопиперазинах переработана М. М. Ботвиник. Недостаточно изложены также некоторые общие методы, нашедшие за последнее время большое распространение, как например, хроматографический и изотопный анализ аминокислотных смесей.

Несмотря на небольшой объем, книга Блока и Боллинг пригодна как справочник благодаря наличию многочисленных таблиц аминокислотного состава отдельных белков, целых органов, пищевых веществ.

Замеченные ошибки исправлены или отмечены в примечаниях.

Книгу Блока и Боллинг можно считать заслуживающей внимания химиков, биологов, агрономов, инженеров, гигиенистов, работающих в области химии белка.

Проф. *Н. И. Гаврилов*

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРА

«Значение аминокислот как основного фактора во всех проблемах, связанных с белком, все более подчеркивается в исследованиях по химии питания. . . Очевидно, что неодинаковая питательная ценность различных белков связана с различным содержанием в них тех специальных аминокислот, которые необходимы для организма и не могут быть синтезированы животным. . .». Эти мысли, высказанные Т. Б. Осборном и Л. Б. Менделем еще в 1914 г., согласуются с общепринятыми взглядами на белковое питание и по настоящее время. Первоначальные опыты Уилькока и Гопкинса, Осборна и Менделя были доведены до успешного завершения работами ученика Менделя — проф. Роуза из Иллинойса *.

После того как Ц. Роуз, Г. Дж. Олмкуист, Р. Ц. Джексон, Г. Г. Митчель и др. доказали незаменимость для питания животного аминокислот — метионина, гистидина, лизина, триптофана, фенилаланина, треонина, лейцина, изолейцина и валина и особую важность цистина, аргинина, тирозина и гликоколя, стало возможно оценивать питательное значение белковых пищевых веществ на основании их аминокислотного состава. Сравнительно точное знание аминокислотного состава белков позволяет давать приблизительную оценку их питательности и, что важнее, дает возможность подбирать разные белки таким образом, чтобы они взаимно дополняли друг друга. Такой метод подбора пищевых рационов сокращает много времени и средств, которые тратились раньше при применявшемся до сих пор способе проб и ошибок в опытах на животных.

У. Е. Гаунт [255] недавно выразил такую мысль (1942): «Запасы белковой пищи в Великобритании для людей и скота ограничены, и этот недостаток будет продолжаться и после войны. Поэтому для наиболее экономичного использования этих ресурсов имеет чрезвычайное значение как можно скорее установить качественные и количественные потребности человека и домашних животных в аминокислотах. Если эти потребности известны хотя бы приближенно, можно подобрать надлежащие количества

---

* Эта упрощенческая точка зрения не может считаться правильной. На пищевую ценность белков влияет не только аминокислотный состав, но и структура белка и способы его обработки (см. работы акад. С. С. Перова). *Ред.*

пищевых белков, при условии, что их аминокислотный состав установлен с некоторой точностью (см. гл. XI). Сейчас накапливаются наблюдения, говорящие о значении отдельных аминокислот в до- и послеоперационном периоде, при заживлении ран, при регенерации крови, во время учения и даже в этиологии душевных заболеваний. Обратно, зная аминокислотный состав сравнительно доступных белков, можно заменить ими дорогостоящие чистые аминокислоты. Анализ помог открыть богатые источники специфических аминокислот в белковых продуктах, где их раньше не подозревали. Белковый анализ полезен также тем, что открывает новые возможности использования белковых отходов промышленности и быстро указывает причину недостаточности того или иного естественного или приготовленного пищевого вещества.

Степень точности анализов естественных неоднородных белков, состав которых может колебаться в зависимости от условий их выделения и от различий в составе аминокислот в тканях или организмах, не обязательно должна быть столь большой, как в случае тех немногих белков, гомогенность которых была доказана. Хотя в аналитической работе надо бороться за абсолютные цифры, но можно получить много полезных сведений также и путем сравнительного аминокислотного анализа, особенно в вопросах белкового питания.

В этой монографии собраны многочисленные аналитические данные из литературы, а также частично наши неопубликованные результаты. Те белки, для которых известно лишь немного аналитических данных неопределенной точности, не включены в обзор; это касается также анализов тех очищенных растительных белков, которые составляют лишь небольшую часть всего белка растения.

Несмотря на ограниченное число пищевых продуктов, которые были исследованы хотя бы сколько-нибудь точными методами, автор задался целью просуммировать в этой монографии те цифры, которые привлекли его внимание, таким образом, чтобы они стали более доступны для использования. Чтобы дать читателю возможность более точно оценить приводимые цифры, аналитические методы различных исследователей приведены подробно. При этом пришлось довольно часто повторяться, особенно в первых трех главах, но авторы надеются, что эти повторения себя оправдают.

Описанные методы включают определение тех незаменимых и заменимых аминокислот, для которых существуют достаточно надежные аналитические приемы. Расположение материала распадается на естественные группы; так, основные аминокислоты собраны в одну группу, тирозин, триптофан и аланин — в другую, дикарбоновые аминокислоты — в третью; серин и треонин — в четвертую и т. д.

ВВЕДЕНИЕ

При подготовке монографии по методам и результатам анализа аминокислот полезно коротко остановиться на предмете такой работы и на ее ограничениях.

Если дело касается определения строения чистого гомогенного белка, то определение некоторых аминокислот с наибольшей возможной точностью принесет больше пользы, чем ориентировочная оценка содержания большого количества аминокислот *.

Таким образом, для чисто химических или физико-химических исследований основным требованием является точность; для широкого обзора в области пищевых белков самое первое, что нужно, это — получить возможно больше материала по присутствию и содержанию незаменимых аминокислот. В нашей практике часто встречалось, что пищевой белок является хорошим источником большинства незаменимых аминокислот, которые легко определить (именно: цистин, метионин, аргинин, гистидин, лизин, тирозин и триптофан), и все же неполноценен в отношении других аминокислот, для выявления которых нет простых и точных способов определения. Если в таких случаях руководствоваться только анализами первой группы аминокислот, то можно было бы впасть в серьезную ошибку при биологической оценке данного белка. Поэтому только полный анализ аминокислот, имеющих значение для питания, может дать правильную и полноценную картину исследуемых продуктов, даже если определение отдельных аминокислот будет произведено не абсолютными, а скорее сравнительными методами.

Где это возможно, для определения каждой аминокислоты приводится несколько методов. Если два совершенно различных метода анализа дают сходные результаты, то полученные цифры вызывают больше доверия, чем несколько хорошо сходящихся параллельных анализов по одному и тому же методу. Очень жаль, что только немногие исследователи пользуются разными методами для определения аминокислот в одном и том же образце. Возможно, что сведение различных предложенных методов в одну монографию увеличит интерес к подобным исследованиям.

При всех самых точных методах анализа остается, однако, один камень преткновения, который никогда не следует забывать.

---

* В этом, вызывающем сомнение, утверждении обнаруживается обычное упрощенчество, присущее авторам. — *Прим. ред.*

За немногими исключениями, все методы аминокислотного анализа требуют предварительного гидролиза белка. Чувствительность каждой аминокислоты к гидролизу изменяется не только с условиями гидролиза, но и в зависимости от сопутствующих белку веществ. Например, было показано, что цистин и цистеин могут разрушаться при кислотном гидролизе в присутствии углеводов, но не распадаются в отсутствие последних.

Производились попытки определить потери аминокислот при гидролизе, добавляя определенную аминокислоту к белку до гидролиза и после него. Кажущееся разрушение можно тогда определить по разности полученных в обоих случаях результатов. Такой прием основан на допущении, что свободная аминокислота ведет себя при гидролизе так же, как ее аналог в пептидной связи. Для некоторых аминокислот известно, что такое допущение неправильно. Но в настоящее время это лучший приближенный метод, который можно предложить, если необходимо произвести гидролиз.

Интересно также отметить, что значительная доля цифр, полученных при тех специальных случаях анализа, где не требуется предварительного гидролиза, оказалась равной величинам, полученным после гидролитического расщепления, или даже ниже их.

Как и во всех других отраслях науки, большинство примененных методов является видоизменениями более ранних способов анализа. Справедливость требует, чтобы при упоминании метода, где это возможно, сперва называлась бы фамилия исследователя, впервые предложившего этот метод, а затем фамилия давшего то видоизменение метода, которым пользуются в данном частном случае. Например, измененный Викери и Ливенуорсом [644, 645] метод Косселя и Кучера [379] для разделения диаминокислот будет именоваться методом Коссель — Викери. Такой способ обозначения применяется в аналитической химии и облегчает припоминание общего метода, отмечая одновременно и частные его усовершенствования.

В интересах единообразия, а также для облегчения сравнения все аналитические данные в этой монографии рассчитаны на 16% азота там, где это возможно было сделать. В тех случаях, где не были приведены цифры содержания общего азота, но содержание аминокислот было вычислено на основе сухого обезжиренного и беззольного вещества, расчет нами также производился на 16% азота, исходя из общепринятой цифры для азота данного вещества, указанной в каждом случае в скобках. Конечно, такой прием допускает известную ошибку, но он все же более приемлем, чем другие способы изображения результатов.

Так как все цифры в таблицах рассчитаны на 16% азота, то достаточно знать истинное содержание азота, чтобы вычислить при-

ближенный состав данного вещества. Если белок содержит в сухом и беззольном виде 18,6% азота, то все цифры в соответствующей таблице надо помножить на

$$\frac{18,6}{16,0}, \text{ или } 1,16.$$

Если содержание азота в данном веществе составляет только 12,2%, то цифры содержания аминокислот надо помножить на $\frac{12,2}{16,0}$, или 0,76.

Хотя автор и не собирался дать полный обзор всех анализов белка, имеющихся в литературе, все же он сознает, что многие ценные данные, главным образом в заграничных журналах или в изданиях, не посвященных физиологической химии, невольно ускользнули от него. Также возможно, что при большом количестве пересчетов и перетасовке литературных данных, понадобившихся для составления монографии, произошли некоторые ошибки в цифрах. Автор будет очень благодарен за указание таких ошибок, а также тех серьезных исследований, которые им были пропущены.

Мы желаем выразить нашу признательность писателям и издателям различных научных книг и журналов, откуда взято большинство описаний деталей опытов, аналитические результаты и почти все диаграммы и рисунки. Хотя библиография составлялась очень внимательно, мы надеемся, что всякие неточности в ней будут доведены до нашего сведения для исправления их.

Глава I

ДИАМИНОКИСЛОТЫ:

АРГИНИН, ГИСТИДИН, ЛИЗИН, ОКСИЛИЗИН И ЦИТРУЛИН

Аминокислота	Формула	Оптическая форма	Молекулярный вес	Процентный состав			
				C	H	N	O
Аргинин . . .	$C_6H_{14}O_2N_4$	d	174,14	41,35	8,10	32,18	18,37
Гистидин . .	$C_6H_9O_2N_3$	l	155,09	46,42	5,85	27,10	20,63
Лизин	$C_6H_{14}O_2N_2$	d	146,13	49,27	9,66	19,17	21,90
Оксилизин .	$C_6H_{14}O_3N_2$		162,13	44,08	8,70	17,28	29,61
Цитрулин . .	$C_6H_{13}O_3N_3$		175,12	41,11	7,48	23,99	27,41

Раздел 1

ВЫДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ

1. ВЫДЕЛЕНИЕ И РАЗДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ (ПО КОССЕЛЮ [378, 379])

История вопроса. В 1898 г. Коссель [378] сообщил о выделении основных аминокислот из протаминов и об их разделении. Гистидин осаждался из нейтрального или слабощелочного гидролизата сулемой и выделялся в виде хлоргидрата. Аргинин осаждался из сильно щелочного раствора гидроокисью бария в присутствии избытка ионов серебра ($Ag_2SO_4 + AgNO_3$) и выделялся в виде азотнокислой соли. После удаления гистидина и аргинина лизин осаждался фосфорновольфрамовой кислотой из подкисленного серной кислотой маточного раствора. Лизин выделялся в виде пикрата.

Как будет видно в дальнейшем, для выделения гистидина и аргинина были подобраны более подходящие соли. В остальном метод Косселя видоизменялся только в деталях.

Экспериментальная часть *

А. МЕТОД КОССЕЛЯ И КУЧЕРА [379]

Основы метода. Белок гидролизуют обычно 25% минеральной кислотой (HCl или H_2SO_4) и после удаления избытка кислоты аргинин и гистидин осаждают совместно в виде серебряных солей из сильно щелочного раствора. Оба основания можно

* Рекомендуемые методы помечены звездочкой.

разделить, пользуясь тем, что серебро осаждает гистидин количественно при нейтральной реакции, а серебряная соль аргинина выпадает только после подщелачивания $Ba(OH)_2$. Из первоначального фильтрата выделяют лизин осаждением фосфорновольфрамовой кислотой.

Гистидин выделяют в виде дихлоргидрата, аргинин — в виде нитрата, а лизин — в виде пикрата. Вносят поправку на растворимость серебряной соли аргинина в присутствии избытка барита (0,036 *г* аргинина на каждый литр) (Гулевич [270]).

Реактивы. Техническая фосфорно-24-вольфрамовая кислота очищается по методу Винтерштейна [686] путем взбалтывания разбавленного солянокислого раствора с эфиром. Эфирную вытяжку, содержащую фосфорновольфрамовую кислоту, отделяют. Фосфорновольфрамовая кислота перекристаллизовывается из воды.

Метод. а) Гидролиз. 25—50 *г* белка гидролизуют 8—14 час. с обратным холодильником с 10 объемами одной из следующих смесей:

а) 150 *г* конц. $H_2SO_4 + 300$ *мл* воды,
б) 162 *мл* конц. $H_2SO_4 + 324$ *мл* воды,
в) 114 *г* $I_2 + 14$ *г* аморфного фосфора + 86 *мл* воды нагревают с обратным холодильником до растворения и пользуются образовавшейся HI 1*.

б) Удаление избытка кислоты и гуминов. Гидролизат охлаждают, разбавляют водой и удаляют избыток кислоты гидроокисью бария в случае H_2SO_4 и азотнокислым и сернокислым серебром — в случае HI. Осадок промывают многократно горячей водой.

в) Удаление аммиака. Раствор аминокислот концентрируют приблизительно до 1 *л* и прибавляют избыток окиси магния. Щелочную суспензию нагревают до полного удаления аммиака в вакууме при 40° и 10—20 *мм* давления.

г) Осаждение гистидина и аргинина. После удаления окиси магния раствор (объем = 3 *л*) обрабатывают при 40° избытком Ag_2SO_4. Избыток иона серебра устанавливается по прибавлению капли фильтрата к нескольким миллилитрам холодного насыщенного раствора $Ba(OH)_2$. Образование коричневого осадка указывает на избыток Ag. Эта важная проба на избыток иона серебра применяется еще до сих пор. После этого раствор насыщают порошкообразным $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$. Образовавшийся осадок серебряных солей аргинина и гистидина промывают холодным насыщенным раствором $Ba(OH)_2$. Фильтрат сохраняют, так как он содержит лизин.

д) Отделение и выделение гистидина. Серебряные соли гистидина и аргинина разлагают пропусканием сероводорода в раз-

* Примечания см. в конце текста книги.

бавленный сернокислый раствор. После удаления Ag_2S и H_2S прибавляют избыток $AgNO_3$ и осаждают гистидин осторожным добавлением холодного насыщенного раствора $Ba(OH)_2$, сначала до нейтральной реакции, а затем до того момента, пока при прибавлении аммиачного раствора $AgNO_3$ не прекратится образование осадка. Осадок серебряной соли гистидина промывают водой. Фильтрат содержит аргинин.

Осадок серебряной соли гистидина разлагают пропусканием сероводорода в разбавленный сернокислый раствор. После удаления Ag_2S и H_2S серную кислоту удаляют баритом и избыток барита — углекислотой. Осадки $BaSO_4$ и $BaCO_3$ отфильтровывают, тщательно промывают горячей водой и фильтрат концентрируют до сиропа. Сироп осаждают 10—20% раствором $AgNO_3$, содержащим 1 каплю разбавленной HNO_3. Образующийся осадок отбрасывают. Из раствора вновь осаждают гистидин в виде серебряной соли, добавляя к раствору аммиак. Осадок отделяют и разлагают горячей разбавленной HCl. Прозрачный фильтрат, полученный после удаления AgCl, концентрируют до небольшого объема. Выделившийся *дихлоргидрат гистидина* отфильтровывают, сушат в вакууме при 40° и взвешивают — $C_6H_9N_3O_2 \cdot 2HCl$.

е) Отделение и выделение аргинина. Фильтрат, полученный после отделения серебряной соли гистидина, насыщают порошкообразным $Ba(OH)_2$. Осадок серебряной соли аргинина отмывают раствором холодного насыщенного $Ba(OH)_2$ до полного удаления иона NO_3 и разлагают сероводородом в сернокислой среде. Осадок $BaSO_4$ и Ag_2S тщательно промывают горячей водой. Избыток H_2SO_4 удаляют $Ba(OH)_2$, а избыток последнего — угольной кислотой. Щелочной фильтрат углекислого аргинина нейтрализуют HNO_3, и раствор концентрируют *в вакууме* досуха. Осадок взвешивают. Он представляет азотнокислую соль аргинина — $C_6H_{14}N_4O_2 \cdot HNO_3 \cdot {}^1/_2H_2O$.

Вносят поправку на растворимость 0,036 *г* аргинина в 1 *л* раствора $AgNO_3$ — $Ba(OH)_2$ [270].

ж) Выделение лизина. Фильтрат, полученный после первоначального отделения аргинина и гистидина, подкисляют H_2SO_4 и удаляют ион серебра сероводородом. Осадки $BaSO_4$ и Ag_2S, как обычно, тщательно промывают горячей водой и раствор сгущают до 500 *мл*. К раствору добавляют необходимое количество серной кислоты до 5% концентрации по весу. Полученный раствор обрабатывают 20% раствором очищенной фосфорно-24-вольфрамовой кислоты в 5% серной кислоте до прекращения образования осадка после 10 сек. стояния. Оставляют стоять на ночь при комнатной температуре, отфильтровывают осадок фосфорновольфрамовокислого лизина и тщательно промывают его 5% H_2SO_4. Осадок разлагают избытком $Ba(OH)_2$. Фосфорновольфрамовокислый барий тщательно промывают разбавленным раствором $Ba(OH)_2$ и

удаляют ионы Ва угольной кислотой. Углекислый барий промывают горячей водой и фильтрат концентрируют до небольшого объема. К фильтрату добавляют небольшими порциями раствор пикриновой кислоты в абсолютном спирте до прекращения образования осадка. Лизин-пикрат отделяют[2] и перекристаллизовывают из небольшого количества воды. Лавров [409] нашел, что растворимость лизин-пикрата в воде при 21—22° равна 0,54 *г* на 100 *мл*. Однако даже при внесении поправки на растворимость получающиеся данные для лизина, после перекристаллизации пикрата, остаются низкими. Поэтому целесообразнее разлагать сырой лизин-пикрат разбавленной H_2SO_4, удалять пикриновую кислоту эфиром и переосаждать лизин фосфорновольфрамовой кислотой. Тирозин остается в фосфорновольфрамовокислом маточнике. Фосфорновольфрамат лизина разлагается, как описано выше, и основание выделяется в виде чистого лизин-пикрата.

Примечание. Чтобы избежать действия HNO_3 на лизин, Коссель и Кучер при первоначальном осаждении пользовались сернокислым серебром. Недостаток работы с Ag_2SO_4 заключается в том, что последнее относительно трудно растворимо даже при 40°. Поэтому авторы отмечают, что если при разбавлении раствора до 3 *л* не появляется положительной качественной пробы с $Ba(OH)_2$, то гидролизат следует еще разбавить.

Коссель и Кучер признают, что этот метод выделения позволяет получать *минимальные* результаты. Однако авторы подчеркивают значение этого метода для сравнительных целей, особенно при соблюдении всех условий осаждения (объемы фильтратов при получении серебряной соли аргинина и фосфорновольфрамовокислого лизина).

Б. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ КОССЕЛЕМ И ПАТТЕНОМ [380]

Основы метода. Гистидин осаждают количественно из разбавленного сернокислого раствора сернокислой ртутью. Это осаждение проводится для отделения от аспарагиновой и других кислот, серебряные соли которых могут в дальнейшем частично выпасть при нейтральной реакции.

Реактивы. 75 *г* HgO растворяют при нагревании в 500 *мл* 15% раствора (по объему) H_2SO_4.

Метод, в основном, не отличается от метода Косселя и Кучера [379], только для удаления гуминов и NH_3 пользуются не магнезией, а $BaCO_3$. После осаждения из нейтрального раствора серебряной соли гистидина, разложения осадка и удаления неорганических реагентов раствор гистидина концентрируют до 2½% содержания H_2SO_4 и осаждают основание путем прибавления раствора $HgSO_4$ в H_2SO_4 (небольшой избыток). Смесь оставляют стоять на ночь. Осадок ртутного производного гистидина отделяют, промывают разбавленным раствором «ртут-

ного реагента» и разлагают сероводородом. Сернистую ртуть отфильтровывают и тщательно промывают горячей водой. Из фильтрата удаляют сероводород кипячением и осаждают H_2SO_4 баритом; последний удаляют углекислотой. Щелочной раствор гистидина подкисляют HCl и, после упаривания раствора в фарфоровой чашке до небольшого объема, получают дихлоргидрат гистидина.

Примечание. Было установлено, что триптофан и цистин также осаждаются $HgSO_4$, но эти аминокислоты легко обнаружить нитропруссидной реакцией или реакцией Гопкинс-Коле.

Хотя большинство исследователей, пользуясь методом Косселя, обычно выделяют аргинин и гистидин в виде солей для их идентификации, все же в литературе приводится большое число аналитических данных, где содержание этих двух аминокислот высчитано из общего азота очищенных фракций. Эти данные обычно превышают результаты, установленные по весу чистых солей: в случае аргинина на 10—15%, в случае гистидина — на 20—30% [494, 422, 643 и др.].

в. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ КОССЕЛЕМ И ПРИНГЛЕМ [381]

Основы метода. Серебряные соли гистидина и аргинина можно отделить друг от друга добавлением избытка $BaCO_3$ при температуре водяной бани.

Примечание. Исследователи показали, что гистидин осаждается количественно серебром при слабо щелочной реакции. Для наблюдения за полнотой реакции пользуются диазо-реакцией Паули [513]. Это было подтверждено Косселем и Штаудтом [385 и др.].

г. МЕТОД КОССЕЛЯ И ШТАУДТА [385]

Основы метода. Аргинин и гистидин осаждают совместно в виде серебряных солей при pH 13—14. После удаления реагентов выделяют количественно аргинин в виде флавианата (Коссель и Гросс, [384]) и высчитывают содержание гистидина по разности между общим азотом раствора и азотом осадка флавианата.

Примечание. Этим методом удобно пользоваться при анализе протаминов и несложных по составу смесей аминокислот. Однако его нельзя рекомендовать для исследования гидролизатов белков, более сложных по составу, так как данные, получаемые для гистидина, редко оказываются удовлетворительными.

д. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ОСБОРНОМ, ЛИВЕНУОРСОМ И БРАУТЛЕХТОМ [494]

Основы метода. Аргинин и гистидин осаждают совместно не сернокислым, а азотнокислым серебром и баритом. Это позволяет уменьшить объем растворов. Гистидин отделяют от арги-

нина осаждением $HgSO_4$ в 5% растворе серной кислоты; при этом осаждается основная масса гистидина. Оставшаяся в растворе часть осаждается $Ag \cdot NO_3 \cdot Ba(OH)_2$ осторожным прибавлением раствора барита до нейтральной реакции по лакмусу. $Ba(OH)_2$ добавляют до тех пор, пока 1 капля холодного насыщенного раствора барита не перестанет давать осадка с 10 *мл* прозрачного фильтрата.

Примечание. Исследование степени чистоты полученных фракций аминокислот дало следующие результаты.

Количество аргинина составляло 85—90% азота фракции аргинина, количество дихлоргидрата гистидина составляло 75—80% азота фракции гистидина. Лизин нельзя рассчитывать по азоту; содержание его определяется только по весу пикрата.

Только после большого навыка можно получать удовлетворительные результаты по этому методу. Продолжительность гидролиза увеличена с 12 до 24 час.

Е. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ ВИКЕРИ И ЛИВЕНУОРСОМ В 1927 г. [642]

Основы метода. Гистидин осаждается полностью при pH свыше 6,6 серебром и гидроокисью бария. Аргинин не осаждается при pH меньшем, чем 7,9. Осадок серебряной соли гистидина содержит, однако, небольшие количества аргинина, которые лучше всего удалить разложением серебряного осадка горячей разбавленной HCl и повторно осадить гистидин серебром при pH 7,0.

Аргинин осаждают серебром и $Ba(OH)_2$ при pH 10—11. Установлено, что нет необходимости насыщать раствор $Ba(OH)_2$ по Косселю [379] и что если проводить осаждение при pH около 11, то поправка Гулевича [270] на растворимость серебряной соли аргинина становится излишней.

Примечание. Бассит [137] нашел, что гистидин не осаждается полностью при pH меньше 7,0—7,2. Последующие опыты показали, что аргинин также в некоторых случаях не осаждается количественно при pH ниже 13—14. Поправка Гулевича исправляет полученные по методу Косселя результаты.

Ж. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ ВИКЕРИ И ЛИВЕНУОРСОМ В 1928 г. [643]

Основы метода. Вместо азотнокислого серебра по Осборну [494] авторы применяют Ag_2O и H_2SO_4 по Кизелю [361].

Аргинин выделяют в виде флавианата (Коссель и Гросс [384]), гистидин — в виде дифлавианата.

Реактивы. Приготовляют влажную окись серебра из $AgNO_3$ и NaOH. Суспензию промывают водой до удаления следов нитрата.

Метод. *а*) Гидролиз. 50 *г* белка (эдестин) гидролизуют 500 *мл* 20% HCl в течение 30 час., пока отношение общего азота к аминному азоту не достигнет максимума. Избыток кислоты удаляют повторной концентрацией раствора в вакууме. Остаток разбавляют до 2 *л* и прибавляют суспензию влажной Ag_2O до тех пор, пока проба Косселя (коричневый осадок при добавлении $Ba(OH)_2$) не сделается положительной. Реакцию поддерживают все время сильно кислой, прибавляя от времени до времени серную кислоту. Осадок AgCl удаляют центрифугированием и тщательно промывают горячей водой. Фильтрат концентрируют в вакууме до 2 *л*.

б) Осаждение аргинина и гистидина. Установив, что раствор содержит избыток серебра, добавляют насыщенный горячий раствор $Ba(OH)_2$ до щелочной реакции по фенолфталеину. Серебряные соли отделяют и промывают один раз разбавленным раствором $Ba(OH)_2$. Фильтрат и промывные воды сохраняют для выделения лизина. Осадок разлагают H_2SO_4 и H_2S, получившийся фильтрат концентрируют до 2 *л*.

в) Разделение аргинина и гистидина. Прибавляют избыток Ag_2O, следя за тем, чтобы реакция оставалась кислой по конго красному. Затем добавляют холодный насыщенный раствор $Ba(OH)_2$ до pH 7,0 по бромтимолсинему (индикатор не вносится в раствор). Осадок серебряной соли гистидина отделяют. Фильтрат содержит *аргинин*.

г) Выделение гистидина. Осадок разлагают горячей разбавленной $HCl \cdot AgCl$, промывают горячей водой, фильтрат упаривают досуха и удаляют избыток HCl прибавлением $Ag_2O \cdot H_2SO_4$. Ион серебра удаляют H_2S, а сероводород — кипячением. Раствор концентрируют до 300 *мл* и к нему прибавляют H_2SO_4 до 5% концентрации по весу и избыток раствора 10% $HgSO_4$ в 10% H_2SO_4. Осадок оставляют стоять на 48 час., затем отделяют и промывают разбавленным раствором реагента. Осадок ртутного производного гистидина разлагают сероводородом. Удаляют сероводород и серную кислоту. Раствор должен содержать лишь небольшое количество серной кислоты. Раствор доводят до определенного объема и определяют в нем содержание азота. Остаток концентрируют до 40—50 *мл* и прибавляют избыток флавиановой кислоты (2,4 динитро-1-нафтол-7-сульфокислота) к горячему раствору. На каждый грамм азота гистидина требуется 14,96 *г* краски. Флавианат кристаллизуется в виде двух последовательных порций. Осадок промывают спиртом и эфиром.

Гистидин = 0,1979 веса дифлавианата гистидина.
Точка плавления = 251° (чистый).

д) Выделение аргинина. Фильтраты от двух осаждений гистидина слабо подкисляют H_2SO_4 и концентрируют до 2 *л*. Затем прибавляют горячий насыщенный раствор $Ba(OH)_2$ до щелочной

реакции по фенолфталеину, центрифугируют осадок серебряной соли аргинина и промывают разбавленным раствором барита. Осадок разлагают H_2SO_4 и H_2S и раствор сернокислого аргинина сгущают до 500 *мл*. В аликвотной части определяют содержание азота. На 1 *г* азота аргинина требуется 5,61 *г* флавиановой кислоты. К раствору аргинина при кипении необходимо добавить небольшой избыток реагента. Флавианат аргинина выделяется уже из теплого раствора в виде блестящих оранжевых пластинок. Осадок промывают водой, спиртом и эфиром и сушат до постоянного веса при 110°.

Аргинин = 0,3566 веса флавианата аргинина.

е) Отделение и выделение лизина. Щелочной фильтрат, полученный после осаждения серебряных солей аргинина и гистидина (см. выше подразделы *б* и *д*), доводят серной кислотой до сильно кислой реакции и удаляют серебро сероводородом. Раствор сгущают, подщелачивают баритом по фенолфталеину и удаляют аммиак в вакууме. После удаления реагентов фильтрат концентрируют до 500 *мл* и добавляют H_2SO_4 до 5% содержания по весу. Затем вносят избыток 20% фосфорно-24-вольфрамовой кислоты в 5% растворе H_2SO_4 и оставляют на ночь для полноты выделения осадка. Осадок отфильтровывают и промывают дважды 2% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 5% серной кислоте. Фосфовольфрамат лизина растворяют в ацетоне, прибавляют воды и разлагают избытком горячего насыщенного раствора барита. Осадок фосфовольфрамата бария дважды промывают холодным разбавленным раствором барита. Из полученных фильтратов полностью удаляют ион бария серной кислотой. Фильтрат не должен содержать ионов Ba и SO_4. Осадок $BaSO_4$, как обычно, тщательно промывают горячей водой. Раствор карбоната лизина концентрируют до 500 *мл*. В аликвотной части определяют содержание азота. Остальную часть раствора сгущают до негустого сиропа, добавляют абсолютного спирта до слабого помутнения и раствор пикриновой кислоты в абсолютном спирте в несколько меньшем количестве, чем требуется по расчету. Пикрат лизина оставляют выкристаллизовываться на ночь. Затем его отфильтровывают, промывают холодным абсолютным спиртом и эфиром и сушат при 110°. Пикрат лизина можно считать достаточно чистым, если его точка плавления равна 250°. В противном случае его перекристаллизовывают из горячей воды и вносят поправку Лаврова [409] на растворимость пикрата лизина в воде — 0,54 *г* на 100 *мл*.

Лизин = 0,3895 веса пикрата лизина.

Примечание. Следует лишний раз подчеркнуть необходимость очень тщательного промывания горячей водой всех неорганических осадков ($BaSO_4$, $BaCO_3$, Ag_2S, HgS и т. д.), а также упари-

вания растворов, по возможности, в вакууме и при низких температурах.

Степень точности полученных аналитических результатов можно повысить повторной обработкой фильтратов после удаления примененных реагентов.

Викери и Ливенуорс [643] указывают, что при этом методе определяется до 90% гистидина и аргинина. В среднем, количество выделяемых чистых производных соответствует 80—90% азота фракции гистидина, 90% фракции аргинина и 60% азота фракции лизина. В соответствии с наблюдениями Косселя и Паттена [380] авторы обнаружили во фракции гистидина дикарбоновые аминокислоты.

В последующей работе Викери и Ливенуорс [645] указывают на трудность добиться в некоторых случаях положительной пробы на избыток ионов серебра в методе $Ag_2O \cdot H_2SO_4$ даже тогда, когда Ag_2SO_4 выкристаллизовывается из раствора. Это серьезный недостаток метода. Они предложили повысить pH, при котором проводится осаждение гистидина, с 7,0 до 7,4. Авторы рекомендуют также исследовать фильтрат, получающийся после удаления сернокислой ртути, так как в нем может содержаться некоторое количество аргинина, выпавшее вместе с серебряными солями гистидина. Викери и Ливенуорс [645] полагают, что небольшое количество гистидина, которое они находят во фракции аргинина, вызвано растворимостью серебряной соли гистидина. Это находится в противоречии с наблюдениями большинства исследователей, которые нашли, что осаждение серебряной соли гистидина можно проводить количественно [23, 101, 137, 380, 385, 642].

3. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ ВИКЕРИ И ЛИВЕНУОРСОМ В 1929 г. [647]

Основы метода. Из фракции гистидина удаляют цистин гидроокисью меди.

Метод. После разложения сероводородом осадка ртутной соли гистидина и удаления избытка реагентов доводят pH раствора баритом до pH 7,0. Пропускают через жидкость ток воздуха до полного превращения цистеина в цистин — отрицательная нитропруссидная проба. Нейтральный раствор кипятят 30 минут с избытком $Cu(OH)_2$ или $CuCO_3$, не содержащими нитрата, охлаждают, фильтруют и промывают. После удаления реагентов гистидин выделяют в виде дифлавианата.

Примечание. Расчет гистидина по азоту фракции гистидина может быть завышен, если гидролизат содержит значительные количества цистина. Однако, повидимому, цистин удаляется при экстракции $AgNO_3$, как это проводится в первоначальном варианте метода Косселя и Кучера [379]. Коссель и Паттен [380] знали о присутствии цистина в гистидиновой фракции.

Абдергальден с сотрудниками [23, 24] и Блок [88] утверждают, что в осадке $Cu(OH)_2$ — $CuCO_3$ теряется значительное количество гистидина, особенно в тех случаях, когда работают с малыми объемами и с малыми количествами белка (см. видоизменение метода по Блоку [88]). Тристрам опровергает это положение [619].

И. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД, ПРЕДЛОЖЕННЫЙ ВИКЕРИ И БЛОКОМ [650]

Основы метода. Чтобы избежать избытка ионов серебра при первоначальном осаждении аргинина и гистидина, авторы пользуются азотнокислым серебром, а не $Ag_2O \cdot H_2SO_4$. При удалении аммиака из фракции лизина для подщелачивания раствора пользуются едким натром вместо $Ba(OH)_2$. Это в значительной мере сокращает время и упрощает эксперимент, так как не приходится промывать большие количества $BaSO_4$. Для уменьшения вспенивания и облегчения перегонки аммиака к щелочному раствору прибавляют спирт [3]. Осадок фосфовольфрамата лизина центрифугируют, разлагают и лизин переосаждают фосфорновольфрамовой кислотой. Таким образом избегают необходимости промывать тяжелый осадок фосфовольфрамата лизина.

К. НЕЗНАЧИТЕЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВНЕСЕННЫЕ КОЛВЕРИ В МЕТОД КОССЕЛЯ [138]

Метод. а) Гидролиз. 5 *г* белка нагревают с 50 *мл* 20% HCl с обратным холодильником в течение 36 час. Прибавляют 1,5 *мл* концентрированной H_2SO_4 и выпаривают раствор до не слишком густого сиропа. Этим методом удаляют почти всю соляную кислоту.

б) Удаление гуминов. Подщелачивают раствор аминокислот баритом по лакмусу. Осадок удаляют и промывают разбавленным $Ba(OH)_2$.

в) Осаждение аргинина и гистидина. Осаждение проводят с Ag_2O — H_2SO_4 и $Ba(OH)_2$ в сильно щелочной среде. Осадок разлагают H_2SO_4 и H_2S.

г) Отделение и выделение гистидина. К раствору прибавляют Ag_2O — H_2SO_4 и $Ba(OH)_2$ до pH 7,4. Осадок серебряной соли гистидина разлагают горячим разбавленным раствором HCl. Раствор доводят до желаемого объема и определяют в нем содержание гистидина по брому (метод Плиммер — Филлипс, [519]) или же по диазореакции Паули — Кёсслера [278]. Из остальной части раствора удаляют HCl добавлением Ag_2O—H_2SO_4 и осаждают гистидин добавлением $^2/_3$ объема раствора $HgSO_4$ в H_2SO_4, приготовленного по Гопкинсу и Коле [307]. Предварительно в гистидиновой фракции доводят содержание H_2SO_4 до 5% по весу. Гистидин выделяют в виде дифлавианата двумя последовательными порциями. Точка плавления = 251—250°.

д) Выделение аргинина. Аргинин осаждают, как обычно, Ag_2O — H_2SO_4 и $Ba(OH)_2$ и выделяют в виде флавианата.

е) Отделение и выделение лизина. После удаления из фракции лизина ионов Ag и Ba из раствора отгоняют аммиак добавлением $Ba(OH)_2$ и спирта. Барий удаляют H_2SO_4, а избыток последней — $BaCO_3$. Фильтрат концентрируют до 75 *мл* и доводят содержание кислоты до 7% добавлением 2,8 *мл* концентрированной H_2SO_4. Затем вносят 8 *г* фосфорно-24-вольфрамовой кислоты в 10 *мл* горячей воды и оставляют стоять на ночь при комнатной температуре. Лизин выделяют, как обычно, в виде пикрата.

Примечание. В этой работе Колвери [138] подчеркивает, что для количественного осаждения гистидина сернокислой ртутью имеет большое значение степень кислотности раствора. Если кислотность раствора выше 5% (весовых), то выходы низки. Он также утверждает, что хлориды препятствуют осаждению гистидина сернокислой ртутью.

Выделенные количества основных аминокислот по сравнению с общим азотом соответствующих фракций в среднем равны: аргинин — 65—75%; гистидин — 80—100% и лизин — 60%.

Л. МЕТОД КОССЕЛЯ, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БЛОКОМ (МИКРОМЕТОД БЛОКА) [86, 88, 101]

Основы метода. Проводят только однократное осаждение. Гистидин осаждают в виде серебряной соли при pH 7,4 ($AgNO_3$ — $Ba(OH)_2$). Из сгущенного фильтрата, оставшегося после осаждения гистидина, выделяют аргинин, добавляя барит до pH 13—14. Из фильтрата от аргинина удаляют аммиак щелочью и спиртом. Фосфовольфрамат лизина разлагают по Винтерштейну [686] и Ван-Сляйку [633] смесью амилового спирта и эфира. Аргинин выделяют в виде флавианата [384], гистидин — в виде нитранилата [88, 101] и лизин — в виде пикрата.

Реактивы. а) 8 н. H_2SO_4. Разбавляют 224 *мл* концентрированной H_2SO_4 водой до литра.

б) $AgNO_3$. 50 *г* азотнокислого серебра растворяют в 100 *мл* воды.

в) 5% H_2SO_4. Растворяют 29 *мл* концентрированной H_2SO_4 в 1000 *мл* воды.

г) Смесь амилового спирта и эфира. Смешивают 1250 *мл* эфира, 1000 *мл* амилового спирта (первичного или третичного) и 50 *мл* этилового спирта.

д) Нитраниловая кислота. Круглодонную, короткогорлую колбу на 300 *мл* соединяют с мешалкой, термометром и капельной воронкой и погружают наполовину в охладительную смесь или раствор из целлосольва и твердой угольной кислоты. В колбу вносят 85 *мл* дымящей HNO_3 и охлаждают содержимое колбы до 0°. Затем добавляют небольшими порциями 20 *г* диацетата

гидрохинона, поддерживая свыше часа температуру от 0° до —5°. Когда все растворится, из капельной воронки в течение 3 час. медленно прибавляют 65 *мл* концентрированной H_2SO_4. Температура реакционной смеси должна быть ниже 5°. Уже после добавления $^2/_3$ всего количества серной кислоты нитраниловая кислота начинает выделяться в виде желтых кристаллов. После прибавления всего количества серной кислоты раствор перемешивают еще час, чтобы обеспечить максимальный выход. Затем реакционную смесь выливают на измельченный чистый лед (10-кратный объем). Как только весь лед растает и температура достигнет 0°, отфильтровывают желтые кристаллы нитраниловой кислоты на воронке со стеклянным фильтром 3. Фильтрование надо проводить при 0°. Нитраниловую кислоту сушат на фильтре в вакуум-эксикаторе над NaOH и H_2SO_4.

Сырую нитраниловую кислоту (около 30 *г*) растворяют в минимальном количестве ледяной воды (около 300 *мл*) и медленно добавляют одну треть объема холодной концентрированной азотной кислоты. Нитраниловая кислота выпадает в виде тонких игл.

После некоторого стояния при 1° осадок отфильтровывают на воронке со стеклянным фильтром и сушат в вакуум-эксикаторе над NaOH в течение нескольких дней. Выход — 14 *г* — около 50% теории *.

е) Реактив Дениже или Гопкинса: 15% раствор $HgSO_4$ в 4 или 6 н. серной кислоте.

ж) Пикриновая кислота, очищенная по Бенедикту [62]. 6 *л* воды нагревают до кипения и добавляют 250 *г* Na_2CO_3. В раствор вносят небольшими порциями 500 *г* влажной пикриновой кислоты. Прекращают нагревание прежде, чем вся кислота растворится, и реакционную смесь перемешивают несколько минут до полного растворения пикриновой кислоты. Раствор декантируют от механических примесей и оставляют стоять одну ночь при комнатной температуре. Пикрат натрия отфильтровывают и промывают дважды 10% раствором NaCl, употребляя каждый раз 2 *л* раствора. После каждого промывания осадок высушивают [4]. После тщательной просушки выключают насос, обливают осадок на фильтре 500 *мл* соляной кислоты (1 : 4), перемешивают фарфоровым шпателем и раствор отсасывают. Эту операцию повторяют три раза. Затем промывают пикриновую кислоту на фильтре 2 *л* холодной воды и сушат в темноте на воздухе. Для удаления следов NaCl пикриновую кислоту перекристаллизовывают дважды из горячего бензола.

Метод. а) Гидролиз. 2,500 *г* обезжиренного белка гидролизуют 25 *мл* 8 н. H_2SO_4 нагреванием с обратным холодильником

* Это указание сделано д-ром А. Шайном.

в течение 16—24 час. Для более равномерного кипения и во избежание вспенивания добавляют немного кварцевого песка и несколько миллилитров каприлового спирта. Гидролизат переносят в центрифужный пирексовый стакан на 250 *мл* и избыток

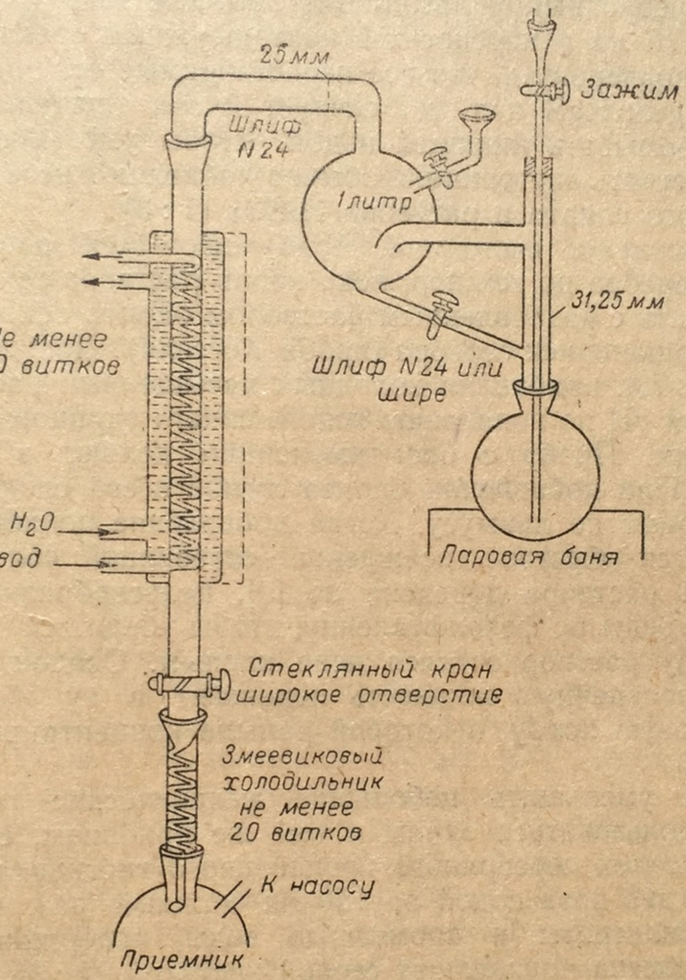


Рис. 1.

кислоты нейтрализуют 30 *г* $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ по конго (приблизительно до pH 3,5).

Все индикаторные бумажки тщательно промываются для уменьшения потерь. Для получения желаемого pH раствора можно пользоваться разбавленными растворами $Ba(OH)_2$ или H_2SO_4.

б) Удаление $BaSO_4$. Осадок отцентрифуговывается, а раствор фильтруют через ватмановский складчатый фильтр № 12 (18,5 *см* диам.) в литровую круглодонную колбу со стеклянным шлифом. На рис. 1 изображен вакуумприбор, который употребляется для всех перегонок [5].

в течение 16—24 час. Для более равномерного кипения и во избежание вспенивания добавляют немного кварцевого песка и несколько миллилитров каприлового спирта. Гидролизат переносят в центрифужный пирексовый стакан на 250 *мл* и избыток

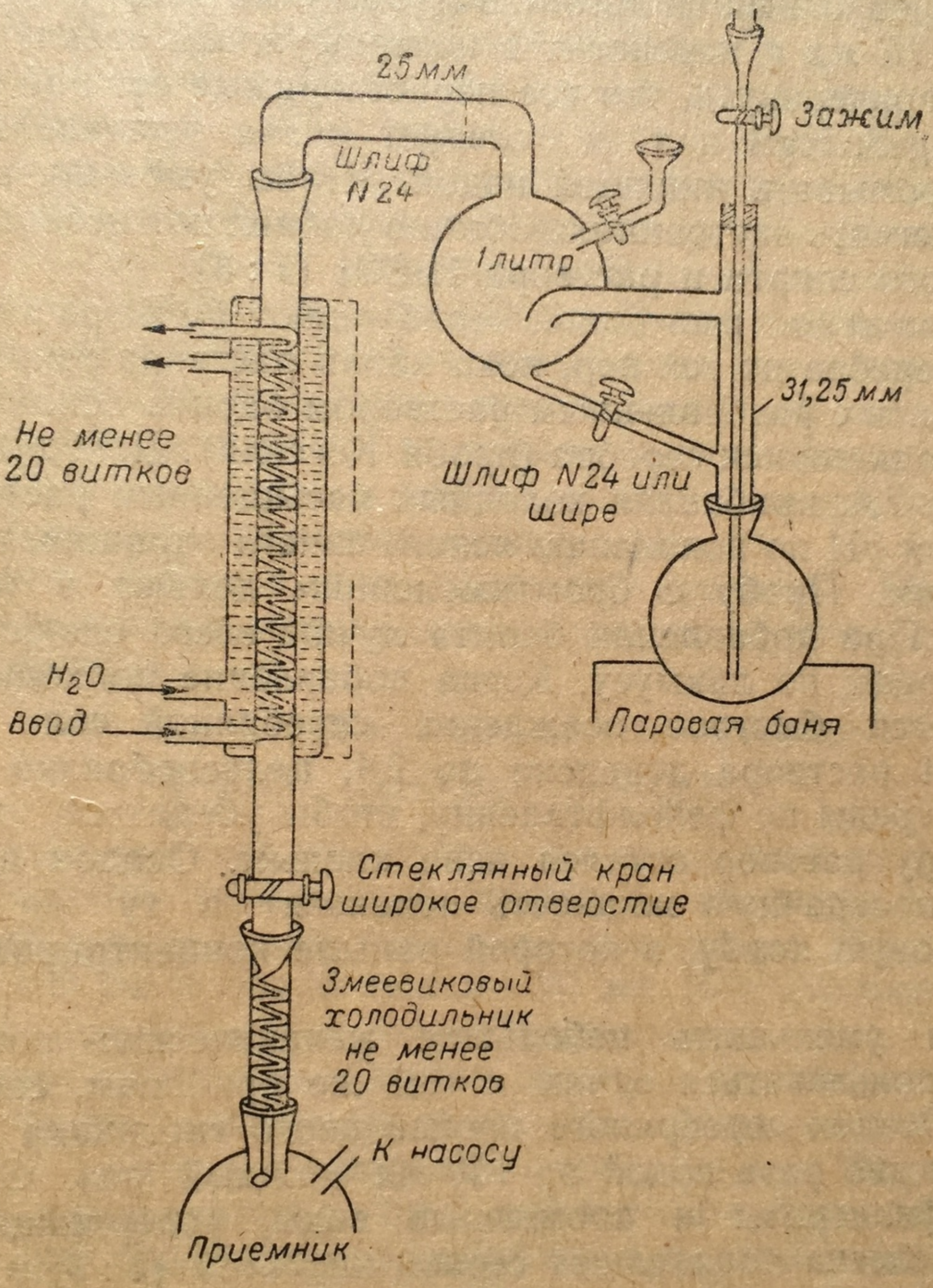


Рис. 1.

кислоты нейтрализуют 30 *г* $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ по конго (приблизительно до pH 3,5).

Все индикаторные бумажки тщательно промываются для уменьшения потерь. Для получения желаемого pH раствора можно пользоваться разбавленными растворами $Ba(OH)_2$ или H_2SO_4.

Осадок сернокислого бария тщательно промывают 3—4 раза горячей водой. Каждый раз осадок растирают и сильно встряхивают, плотно закрывая центрифужный стаканчик пробкой. Для избежания вспенивания добавляют несколько капель каприлового спирта. Прозрачный фильтрат и промывные воды упаривают примерно до 75 *мл* и переносят в центрифужный стакан на 250 *мл*.

Надо подчеркнуть, что все нерастворимые осадки, как $BaSO_4$, $BaCO_3$, Ag_2S, HgS и т. д., следует очень тщательно и многократно промывать кипящей водой. Чтобы уменьшить вспенивание и облегчить экстракцию, обычно добавляют несколько капель каприлового спирта и раствора H_2SO_4 (1 : 3).

в) Осаждение гистидина. Прибавляют 50% раствор азотнокислого серебра до тех пор, пока капля раствора аминокислот не будет давать с разбавленным раствором барита обильного коричневого осадка окиси серебра (проба Косселя). Доводят pH гидролизата до 7,4, прибавляя холодный насыщенный раствор барита и проверяя pH по появлению ясного синего окрашивания с бромтимолсиним. Пробу с бромтимолсиним делают в фарфоровой ложечке. При добавлении барита лучше всего следить за изменением среды по лакмусу. Когда добавление подходит к концу, наблюдается быстрое осаждение серебряной соли гистидина. Когда pH раствора доведена до 7,4, целесообразно проверить реакцию среды по фенолфталеину, чтобы убедиться, что по этому индикатору раствор остался ясно кислым. Осадок центрифугируют, и прозрачную жидкость переносят в ту же круглодонную литровую колбу, в которой раньше концентрировались растворы.

Чтобы уменьшить небольшие механические потери, очень полезно пользоваться одним и тем же прибором, если это возможно. Осадок серебряного производного гистидина промывают один или два раза водой по 150 *мл* каждый раз. Соединенные вместе фильтраты и промывные воды, содержащие аргинин и лизин, слегка подкисляют серной кислотой (1 : 3) и концентрируют в вакууме примерно до 50 *мл*. Для уменьшения вспенивания добавляют значительное количество каприлового спирта [6].

г) Выделение гистидина. Осадок серебряной соли гистидина суспендируют в 50—150 *мл* воды и подкисляют серной кислотой (1 : 3) до pH 1—2. Достаточно довести реакцию суспензии до кислой по конго (ясносинее окрашивание); однако необходимо следить, чтобы был избыток серной кислоты. Серебряную соль гистидина разлагают сероводородом. Разложение обычно проходит в течение нескольких минут и заканчивается вскоре после того, как сернистое серебро начинает образовывать довольно крупные комки. Сероводород удаляют током воздуха. Избыток серной кислоты удаляют осторожным добавлением насыщенного раствора $Ba(OH)_2$ до pH 3—4.

Реакция раствора, содержащего гистидин, не имеет, повидимому, особого значения, но раствор не должен содержать растворимых бариевых солей.

Осадок отделяют и промывают. Раствор сернокислого гистидина концентрируют до 5 *мл* и фильтруют через 9-*см* ватмановский мягкий фильтр в эрленмейеровскую колбу на 125 *мл*. Прибор, в котором концентрировался раствор, и колбочку тщательно смывают сначала 5—10 *мл* воды, а затем дважды метиловым спиртом по 5 *мл*. Каждую промывную жидкость последовательно фильтруют. После добавления метилового спирта раствор сернокислого гистидина может сделаться мутным. Его охлаждают до комнатной температуры и добавляют избыток нитраниловой кислоты сухой или растворенной в небольшом количестве метилового спирта. После потирания стенок палочкой или внесения затравки тотчас начинается выделение нитранилата гистидина. Раствор оставляют на ночь в рефрижераторе и затем отсасывают осадок в тигле со стеклянным фильтром [4].

Применяют избыток нитраниловой кислоты. Нитранилат гистидина промывают метиловым спиртом и эфиром, сушат при 105° и взвешивают.

Гистидин = 0,403 веса нитранилата гистидина.

$$C_6H_9O_2N_3 \cdot C_6H_2O_8N_2 \qquad N = 18{,}2\%.$$

В некоторых случаях желательно до осаждения нитраниловой кислотой очистить фракцию, содержащую гистидин. Для этой цели раствор сернокислого гистидина доводят до pH 3—4, упаривают до 100 *мл* и обрабатывают 30 *мл* 15% раствора $HgSO_4$ в 4 н. H_2SO_4 (реактив Дениже). Реакционную смесь оставляют на ночь в рефрижераторе. Осадок ртутного производного гистидина отцентрифуговывают и фильтрат отбрасывают. Осадок суспендируют в воде и разлагают сероводородом. Полнота разложения устанавливается по глубокой черной окраске суспензии и по тому, что после прекращения пропускания сероводорода осадок быстро оседает. Сероводород удаляют током воздуха. Реакцию раствора доводят до pH 3—4. Осадки сернистой ртути и сернокислого бария центрифугируют и выделяют гистидин в виде нитранилата.

Викери [659] предложил пользоваться для осаждения гистидина 3,4-дихлорбензосульфокислотой. К раствору хлоргидрата гистидина прибавляют 4 моля 3,4-дихлорбензолсульфокислоты (6,8 *г* на 1 *г* гистидина) и нагревают смесь до полного растворения осадка. Охлаждают сначала медленно при комнатной температуре, а затем 24—40 час. в рефрижераторе. Дисульфонат гистидина переносят в тигель со стеклянным фильтром, пользуясь для этого холодным маточным раствором, промывают 3—5 *мл* холодного 4% раствора 3,4-дихлорбензолсульфокислоты. Тигель

с осадком сушат в течение некоторого времени в эксикаторе над H_2SO_4, затем промывают трижды, употребляя по 10 *мл* эфира, и сушат при 105°.

Гистидин = 0,2548 веса дисульфоната.
Температура разложения 273 — 280°.
N = 6,90% (теорет.).

Бариевая соль 3, 4-дихлорбензолсульфокислоты нерастворима.

В 100 *мл* 10% раствора реагента растворяется около 95 *мг* дисульфоната гистидина. Его можно перекристаллизовать из горячей воды.

д) Отделение аргинина. Раствор аминокислоты упаривают приблизительно до 50 *мл*, переносят в центрифужный стакан на 250 *мл*, удостоверяются, что раствор содержит избыток иона серебра по пробе Косселя. Если реакция слабая, то прибавляют еще некоторое количество азотнокислого серебра. Серебряную соль аргинина осаждают прибавлением горячего насыщенного раствора $Ba(OH)_2$. Раствор подщелачивают баритом до темно-красного окрашивания по фенолфталеину и затем добавляют еще около 5 *мл* раствора барита. Осадок серебряного производного аргинина центрифугируют и промывают холодным насыщенным раствором $Ba(OH)_2$. Общий объем фильтрата и промывных вод составляет 175—300 *мл*.

Можно внести поправку на растворимость серебряной соли аргинина — 3,6 *мг* аргинина на каждые 100 *мл* раствора [270].

Фильтрат, оставшийся после осаждения аргинина, содержит лизин.

е) Выделение аргинина. Осадок серебряной соли аргинина суспендируют в 200 *мл* разбавленной H_2SO_4. Раствор должен быть ясно кислым по конго. Соль разлагают сероводородом, который удаляют током воздуха, и доводят реакцию среды до «нейтральной» по конго добавлением барита. Осадок центрифугируют и промывают горячей водой, содержащей одну каплю серной кислоты (1 : 3). Фильтрат и промывные воды концентрируют приблизительно до 15 *мл* и профильтровывают раствор сернокислого аргинина через мягкий фильтр в эрленмейеровскую колбочку на 125 *мл*. Прибор и перегонную колбу промывают несколько раз небольшими порциями воды. Соединенные фильтрат и промывные воды (25—30 *мл*) нагревают до 90° и обрабатывают избытком флавиановой кислоты (2,4-динитро-1-нафтол-7-сульфокислота) сухой или растворенной в теплой воде. Несколько минут спустя в горячем растворе появляются блестящие пластинки аргинин-флавианата. Если кристаллизация не начинается, то вносят затравку. Раствор оставляют на ночь в рефрижераторе, а затем отсасывают флавианат аргинина во взвешен-

Врач ... Игорь ...

ном тигле со стеклянным фильтром 3, промывают холодной водой, ацетоном и эфиром и сушат при 110°.

Аргинин = 0,357 веса флавианата аргинина.
Точка плавления 258—260° с потемнением.
N = 17,20%; S = 6,56%.

ж) Удаление аммиака. Сильно щелочной фильтрат, полученный после осаждения серебряной соли аргинина, *немедленно* подкисляют раствором H_2SO_4 (1 : 3) до pH=1. Ион серебра удаляют сероводородом. Осадок сернистого серебра и сернокислого бария тщательно промывают, фильтрат и промывные воды сгущают в вакууме до 200 *мл*. К жидкости добавляют 1—2 *мл* 0,1% раствора фенолфталеина в 50% спирте и подщелачивают раствор 10% щелочью таким образом, чтобы после прибавления 75 *мл* спирта реакционная смесь была окрашена в красный цвет. Раствор выпаривают при низкой температуре примерно до 10 *мл* и добавляют серную кислоту (1 : 3) до исчезновения красной окраски фенолфталеина. Иногда раствор обесцвечивается во время выпаривания. Это связано или с понижением щелочности раствора, вследствие отгонки аммиака, или, чаще, с разрушением индикатора. Поэтому полезно к концу отгонки добавлять свежую порцию индикатора.

з) Осаждение фосфорновольфрамовокислого лизина. К раствору добавляют еще 2—4 *мл* серной кислоты (1 : 3) и переносят его в центрифужный стакан на 250 *мл*. Прибор смывается 3—4 раза небольшими порциями воды. Конечный объем жидкости не должен превышать 40 *мл*. Раствор нагревают на кипящей водяной бане приблизительно до 90° и прибавляют 10 *г* фосфорно-24-вольфрамовой кислоты, растворенной в 30 или 50 *мл* горячей 2 или 5% серной кислоты (по весу). Смесь тотчас же помещают в ледяную воду и перемешивают в течение короткого времени. Фосфорновольфрамовокислый лизин начинает почти немедленно кристаллизоваться. Раствор оставляют стоять во льду в течение 30—45 мин. Осадок центрифугируют и тщательно промывают 3—4 раза 2% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 2—5% серной кислоте. Объем раствора фосфорновольфрамовокислого лизина не должен превышать 150 *мл*.

и) Разложение фосфорновольфрамовокислого лизина. Кристаллический осадок фосфовольфрамата суспендируют в 50—75 *мл* воды, подкисленной 4 *мл* серной кислоты (1 : 3). Затем добавляют 50—75 *мл* смеси эфира и амилового спирта и перемешивают до полного растворения осадка.

Необходимо добавлять достаточное количество органических растворителей, чтобы после растворения содержащейся в растворе фосфорновольфрамовой кислоты удельный вес раствора был меньше удельного веса водного слоя.

Водный слой и растворитель переносят в делительную воронку на 300 *мл* и спускают водный слой во вторую воронку такого же объема. Раствор фосфорновольфрамовой кислоты переносят в эрленмейеровскую колбу и оставляют до конца экстрагирования. Делительная воронка споласкивается 10—15 *мл* воды, содержащей несколько капель серной кислоты. Водный слой экстрагируют еще раз свежей смесью и спускают в первую воронку, предварительно вымытую. Вытяжку добавляют к первой порции экстракта в отставленную эрленмейеровскую колбу. Экстракцию фосфорновольфрамовой кислоты повторяют таким же образом третий раз. Раствор сульфата лизина оставляют, а соединенные экстракты переносят в делительную воронку, взбалтывают и отделяют водный слой. Органические растворители отбрасывают, а водный слой экстрагируют свежим растворителем.

Все водные растворы соединяют вместе и экстрагируют смесью амилового спирта и эфира. Последнюю вытяжку извлекают небольшим количеством разбавленной серной кислоты. Раствор сульфата лизина переносят в центрифужный стакан на 250 *мл* и доводят pH до 5 по конго и лакмусу. Затем добавляют несколько граммов $BaCO_3$ и перемешивают до тех пор, пока реакция не станет щелочной по лакмусу. Осадок отделяют и промывают. Фильтрат концентрируют в вакууме до 200 *мл,* предварительно добавив около 1 *г* $BaCO_3$ и немного каприлового спирта. Осадок фильтруют, промывают и концентрируют раствор углекислого лизина при низкой температуре до 30—50 *мл.*

к) Выделение пикрата лизина. Раствор лизина фильтруют, переносят в круглодонную колбу на 100 *мл* и концентрируют при *низкой* температуре до не очень густого сиропа. Очень важно не перегревать раствор карбоната лизина выше 40°. Прибор смывается несколькими каплями воды, и к сиропу добавляют около 10 *мл* абсолютного спирта. При этом раствор часто становится мутным. Затем к охлажденному карбонату лизина прибавляют избыток очищенной пикриновой кислоты в растворе абсолютного спирта. Обычно пикрат лизина начинает тотчас же выкристаллизовываться. Его оставляют стоять на ночь при 0°, а затем отфильтровывают в тигле со стеклянным фильтром 4 и промывают холодным абсолютным спиртом и эфиром.

Чистый пикрат лизина взрывает при 266°, пикрат лизина, содержащий немного примеси, при 250°.

Лизин = 0,39 веса пикрата лизина.

Если пикрат лизина разлагается не выше 250° (неиспр.), то его следует перекристаллизовать из небольшого количества горячей воды и внести поправку на растворимость пикрата лизина в воде: 540 *мг* в 100 *мл* при 21—22° (Лавров [409]) или 340 *мг* в 100 *мл* воды при 0° (Тристрам [619]).

л) Выделение нитранилата лизина. В присутствии больших количеств пролина часто бывает трудно выделить пикрат лизина в чистом виде. В этом случае можно с некоторым успехом пользоваться нитраниловой кислотой. Раствор карбоната лизина сгущают примерно до 10 *мл* и прибавляют 25 *мл* метанола и избыток нитраниловой кислоты. Вскоре начинает выпадать нитранилат лизина. После ночи стояния в рефрижераторе его отфильтровывают в тигле со стеклянным фильтром 4. Осадок промывают метанолом и эфиром и сушат при 110°. Температура разложения 214° (неиспр.).

Лизин = 0,387 веса нитранилата лизина.

Примечание. Как мы установили, описанный выше метод позволяет получать удовлетворительные и сходящиеся результаты с большим числом белков, значительно различающихся по аминокислотному составу и по степени чистоты. Однако следует помнить, что для определения основных аминокислот нельзя установить постоянных правил. Часто оказывается необходимым изменять условия эксперимента вследствие специфических особенностей. Например, если содержание в белке одной или нескольких основных аминокислот невелико, то для анализа полезно применять большие количества белка или комбинировать микрометод Косселя со специфическими колориметрическими методами, описанными ниже. Разработанное нами видоизменение метода Косселя позволяет двум работникам проводить 2 полных определения аргинина, гистидина и лизина в течение примерно 12 час. При этом единственной аппаратурой, которая встречается не в каждой среднеоборудованной лаборатории, является установка для быстрой перегонки в вакууме (рис. 1). Простота определения основных аминокислот позволяет проводить наряду с анализами белка также и контрольные анализы. Контрольные анализы ставят обычно одновременно с исследованием белка. Для этой цели к смеси гликоколя или других аминокислот и крахмала или других углеводов добавляют определенное количество аргинина, гистидина и лизина. Смесь должна совпадать по весу и по содержанию азота с исследуемым белком. 135 *мг* хлоргидрата гистидина, 121 *мг* хлоргидрата аргинина и 150 *мг* дихлоргидрата лизина соответствуют 100 *мг* каждого основания. Мы нашли, что потери при определении каждой аминокислоты почти постоянны для каждого препарата белка. Однако они варьируют в зависимости от небелковых примесей. Потери обычно составляют для аргинина 18—28 *мг*, для гистидина — 8—14 *мг* и для лизина — 14—28 *мг*.

Миллер [451] нашел, что микрометод Блока, который является модификацией макрометода Коссель-Викери, дает также хорошие результаты, если пользоваться поправкой Гулевича на

растворимость серебряной соли аргинина. Между тем, с большими количествами белка (50 *г* и более) трудно провести анализ менее, чем в две недели.

Нитраниловая кислота (2,5-диокси, 3,6-динитро-*п*-бензохинон) была первоначально применена в 1936 г. Тауном [617] для выделения гликоколя, а в 1937 г. — Штайном и Миллером [586] для осаждения основных аминокислот (частное сообщение [586]). По Штайну и Миллеру, нитраниловая кислота осаждает 82% всего гистидина из водноспиртовой смеси, которой пользовался Таун для выделения гликоколя.

Мэзур [442] утверждает, что растворимость фосфорновольфрамовокислого лизина в 2% (вес) серной кислоте меньше, чем в 5%. Обычно пользуются 5% серной кислотой.

М. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД АЙРИ [38]

Основы метода. Основные аминокислоты и аммиак осаждаются непосредственно из гидролизата фосфорновольфрамовой кислотой. Фосфорновольфрамовокислый аммоний не разлагается смесью амилового спирта и эфира и может быть отделен центрифугированием.

Метод. 4—5 *г* белка гидролизуют 36—40 час. 20% HCl. Гидролизат переносят в центрифужный стакан на 250 *мл*, нагревают и прибавляют избыток фосфо-24-вольфрамовой кислоты. Раствор разбавляют водой до 5% концентрации HCl и оставляют на ночь для полноты осаждения. Осадок промывают дважды 2,5% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 5% H_2SO_4 и разлагают смесью амилового спирта и эфира (см. раздел *Л*). Не растворившийся фосфорновольфрамовокислый аммоний отделяют и промывают. Основания разделяют с помощью Ag_2O — H_2SO_4 — $Ba(OH)_2$. Как правило, повторного осаждения фосфорновольфрамовой кислотой не производят.

* Н. ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МЕТОД ТРИСТРАМА [619]

Основы метода. В основном метод аналогичен методу Блока, с той лишь разницей, что аммиак удаляют в виде фосфовольфрамата (метод Айри), а не перегонкой.

Метод. Приводятся только отклонения от метода Коссель-Блока.

а) Все осадки промываются трехкратным растиранием в мельнице, если нет каких-либо других указаний.

б) Осадок $BaSO_4$ кипятят 10 минут с подкисленной водой.

в) Серебряную соль гистидина промывают дважды водой.

г) Серебряную соль аргинина промывают дважды разбавленным раствором барита.

д) Осадок фосфорновольфрамовокислого лизина оставляют на ночь в холодном месте (15—20° С).

О. МЕТОД МУРО И ГОФФЕРА [466]

Основы метода. Аргинин и гистидин переосаждают уксуснокислым серебром и баритом до тех пор, пока осадок не будет состоять только из серебряных солей этих аминокислот (2—3 раза). Гистидин отделяется от аргинина разбавленным раствором барита и уксуснокислым серебром при нейтральной реакции.

Реактивы. Уксуснокислое серебро [137]. Нагревают до кипения смесь из 900 *мл* воды и 90 *мл* 20% уксуснокислого натрия и добавляют 150 *мл* 20% азотнокислого серебра. Раствору дают остыть в темном месте. Уксуснокислое серебро отфильтровывают, промывают, сушат и перекристаллизовывают из воды добавлением 2 объемов спирта. Для осаждения применяют насыщенный раствор уксуснокислого серебра в разбавленной уксусной кислоте.

Метод. а) Осаждение аргинина и гистидина. Аргинин и гистидин осаждают из небольшого объема добавлением ацетата серебра и барита до насыщения. Осадок растворяют в 10% CH_3COOH и вторично осаждают основания уксуснокислым серебром и баритом. Эту операцию повторяют 2 или 3 раза.

б) Отделение гистидина. К смеси аргинина и гистидина добавляют разбавленный раствор $Ba(OH)_2$ в количестве, необходимом для точной нейтрализации раствора и нейтрализации прибавляемого в избытке уксуснокислого серебра (проба Косселя). Осадок серебряной соли гистидина, который содержит некоторое количество аргинина, трижды промывают разбавленным раствором $Ba(OH)_2$. Фильтрат содержит аргинин. Осадок растворяют в 10% CH_3COOH и удаляют ион серебра 0,1 н.-KCl. Добавляют раствор $Ba(OH)_2$ в количестве, необходимом для нейтрализации кислоты, и прибавляют еще 10 *мл* избытка. Затем вносят 10 *мл* раствора уксуснокислого серебра, эквивалентное 10 *мл* избытка $Ba(OH)_2$ и промывают выпавший осадок Ag соли гистидина, как описано выше. Тремя подобными осаждениями добиваются полноты разделения аргинина и гистидина.

Примечание. Приведены только данные, полученные на смесях аргинина и гистидина. Ввиду этого нельзя оценить значение метода в применении к белковым гидролизатам [7].

Обсуждение

Метод Косселя основан на выделении чистых производных аминокислот. Поэтому естественно, что получаемые результаты имеют минимальную величину. Этот факт, установленный впервые Косселем и Кучером в 1900 г., в дальнейшем был подтвержден всеми исследователями. Однако было сделано много попыток получить более достоверные аналитические результаты.

3 Зак. 4624. Блок и Боллинг.

Потери при гидролизе. Повидимому, основным неразрешенным затруднением при всех анализах аминокислот, как отмечалось во введении, является их распад во время гидролиза. Коссель и Кучер [379] и другие исследователи пытались уменьшить эти потери изменением условий гидролиза.

Тристрам [619] наблюдал, что выход аргинина понижается с увеличением содержания углеводов в гидролизуемых препаратах. Он предложил вносить в этих случаях следующие эмпирические поправки.

Потери аргинина в присутствии углеводов:

Азот в %	17,0	16,0	15,0	12,5—13,0
Коэфициент поправки . .	1,06	1,10	1,15	1,20

Потери аргинина. Во время работы в лаборатории Косселя Гулевич [270] установил растворимость серебряной соли аргинина, взбалтывая в течение 4 час. свежеосажденную соль с холодным насыщенным раствором $Ba(OH)_2$ в 3% растворе $Ba(NO_3)_2$. При этом, как показали опыты, в 1 *л* растворяется 0,036 *г* аргинина. Эта поправка обычно применялась Косселем и Осборном и другими исследователями. В 1927 г. Викери и Ливенуорс [642] установили, что если вести осаждение при pH, близком к 11, то поправка Гулевича становится излишней. Другие исследования [385, 86, 104, 451, 619 и т. д.], напротив, подтверждают необходимость насыщения раствора серебряных солей баритом, как рекомендовал Коссель, и необходимость внесения поправки Гулевича. Установить абсолютное значение этой поправки с какой-либо степенью точности невозможно, так как растворимость серебряной соли аргинина варьирует в зависимости от природы и количества других сопутствующих аминокислот [Миллер, 451].

Потери, связанные с растворимостью аргинин-флавианата в присутствии избытка флавиановой кислоты, почти ничтожны.

Потери гистидина. Кроме одного исключения [645], принимается [23, 88, 101, 195, 381, 385], что гистидин осаждается количественно в виде серебряной соли.

Когда в дальнейшем стали пользоваться нитраниловой кислотой и исключили стадию очистки через медную соль, то оказалось возможным количественно выделять гистидин из малых порций белковых гидролизатов [Блок, 101, и Девайн, 195].

Потери лизина. Следует отметить, что в течение 40 лет метод определения лизина, предложенный впервые Косселем и Кучером [379], почти не изменился, за исключением незначительных деталей. Если сырой пикрат лизина не взрывает выше 250° (неиспр.), то целесообразно [643] перекристаллизовывать пикрат из воды. Поправка на растворимость пикрата лизина в воде следующая: при 21—22° — 5,4 *мг* на 1 *мл* по Лаврову [409]; при 0° — 3,4 *мг* на 1 *мл* по Тристраму [619]. Теорель [605] подчерки-

вает, что при анализе малых количеств белка растворимость пикрата лизина может увеличиться до 16% от общего количества лизина. Вторая ошибка при определении лизина, которую труднее установить, связана с растворимостью фосфорновольфрамовой соли. Ван-Сляйк [630] определил, что фосфорновольфрамовая соль лизина растворяется в избытке фосфорновольфрамовой кислоты в присутствии приблизительно 1,0 н.-HCl в количестве 1,3 *мг* на 100 *мл*. По Тиману [606], 98% свободного основания осаждается из 10 *мл* раствора 5% H_2SO_4 3 *мл* 20% раствора фосфо-24-вольфрамовой кислоты после стояния в течение ночи при 0°. Однако он отмечает, что действительная поправка, которую следует внести в каждом случае, *значительно выше* и что она варьирует в зависимости от содержания азота в растворе. Недавно Ван-Сляйк, Гиллер и Макфэдьен [639] указали, что нельзя вносить простую поправку на растворимость, так как растворимость фосфовольфраматов диаминокислот представляет не только функцию количества определяемой аминокислоты, но зависит и от количества других диаминокислот, находящихся в растворе.

Дэкин [191] указывает, что если обработать раствор, содержащий 300 *мг* лизина, попеременно 15% раствором $AgNO_3$ и 1,0 или 2,0 н.-NaOH до образования ясного коричневого осадка окиси серебра, то в промытом осадке обнаруживается от 5 до 10% основания. К сожалению, подобное исследование не было проведено с реактивами, которые обычно применяются при методе Косселя ($AgNO_3$ — $Ba(OH)_2$).

«Общие» потери. Для установления общей суммы потерь, как механических, так и связанных с растворимостью, Тристрам [619] пользовался смесью чистых аминокислот и установил следующие поправки к методу Коссель-Блока.

Аргинин: 3,6 *мг* на 100 *мл* раствора $AgNO_3 + Ba(OH)_2 + 8 — 20$ *мг*
Гистидин: 1—8 *мг* „общих“ потерь $+ 1$ *мг*
Лизин: 7—15 *мг* „общих“ потерь

Или общая поправка на аргинин = 19—31 *мг*, на гистидин = =2—8 *мг* и на лизин = 7—15 *мг*. Поправки на аргинин и гистидин, связанные с потерями при гидролизе, даны выше.

Боллинг и Блок советуют, наряду с определением каждой аминокислоты, проводить контрольный анализ. Контроль проводится на смеси диаминокислот, гликоколя, других аминокислот и углеводов. Смесь составлена приблизительно в том же соотношении оснований к общему азоту, как и в исследуемом белке. Это позволяет установить «общие потери» применительно к каждому препарату белка. Некоторые полученные при этом данные суммированы ниже.

СМЕСЬ АМИНОКИСЛОТ С УГЛЕВОДАМИ

Азот, %	Потери аргинина, *мг*	Потери гистидина, *мг*	Потери лизина, *мг*
7,0	27,9	6,4	20,2
7,9	23,6	14,9	21,8
8,0	22,1	15,7	32,8
11,5	—	—	20,6
13,8	14,7	6,5	16,0
15,5	21,1	9,1	12,9
15,5	17,7	8,0	10,4
16,0	6,6	15,1	15,3

Из этой таблицы следует, что данные по аргинину и лизину значительно понижаются в присутствии больших количеств углеводов. Так, при исследовании препаратов белка с содержанием 12% азота и выше мы вносим поправку на «общие потери» в 18 *мг* для аргинина и 14 *мг* для лизина. В белке с содержанием азота ниже 12% мы пользовались поправкой в 28 *мг* для аргинина и 28 *мг* для лизина. В согласии с наблюдениями Тристрама [620] потери гистидина в такой степени не зависят от количества присутствующих во время гидролиза углеводов, а зависят от других факторов. Средняя потеря гистидина колеблется в пределах 9—14 *мг*.

Найт [371] указывает, что гистидин, прибавленный в небольших количествах к белку вируса табачной мозаики до гидролиза, обнаруживается затем в количествах 36 и 64%. Разрушающее действие углеводов на гистидин во время гидролиза иллюстрируется также тем, что при гидролизе intact Holmes ribgrass (вирус) было найдено 0,4% гистидина, а при гидролизе фракции, полученной после удаления нуклеиновых кислот, — 0,6%. Это подтверждает более ранние данные Блока [101] о белках дрожжей.

Принято считать, что поведение свободных аминокислот аналогично поведению аминокислот в белковой молекуле. Это не всегда соответствует действительности. Но все же приходится довольствоваться подобными контрольными анализами.

2. ГРУППОВОЕ ОТДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ

А. ОСАЖДЕНИЕ ФОСФОРНОВОЛЬФРАМОВОЙ КИСЛОТОЙ (ГАУСМАН [284])

Основы метода. Белок гидролизуют концентрированной HCl и определяют амидный азот (в виде NH_3) отгонкой с окисью магния. Оставшийся гидролизат подкисляют HCl и осаждают основания избытком раствора фосфорновольфрамовой кислоты в разбавленной HCl. Спустя 24 часа осадок отфильтровывают, про-

СМЕСЬ АМИНОКИСЛОТ С УГЛЕВОДАМИ

Азот, %	Потери аргинина, *мг*	Потери гистидина, *мг*	Потери лизина, *мг*
7,0	27,9	6,4	20,2
7,9	23,6	14,9	21,8
8,0	22,1	15,7	32,8
11,5	—	—	20,6
13,8	14,7	6,5	16,0
15,5	21,1	9,1	12,9
15,5	17,7	8,0	10,4
16,0	6,6	15,1	15,3

Из этой таблицы следует, что данные по аргинину и лизину значительно понижаются в присутствии больших количеств углеводов. Так, при исследовании препаратов белка с содержанием 12% азота и выше мы вносим поправку на «общие потери» в 18 *мг* для аргинина и 14 *мг* для лизина. В белке с содержанием азота ниже 12% мы пользовались поправкой в 28 *мг* для аргинина и 28 *мг* для лизина. В согласии с наблюдениями Тристрама [620] потери гистидина в такой степени не зависят от количества присутствующих во время гидролиза углеводов, а зависят от других факторов. Средняя потеря гистидина колеблется в пределах 9—14 *мг*.

Найт [371] указывает, что гистидин, прибавленный в небольших количествах к белку вируса табачной мозаики до гидролиза, обнаруживается затем в количествах 36 и 64%. Разрушающее действие углеводов на гистидин во время гидролиза иллюстрируется также тем, что при гидролизе intact Holmes ribgrass (вирус) было найдено 0,4% гистидина, а при гидролизе фракции, полученной после удаления нуклеиновых кислот, — 0,6%. Это подтверждает более ранние данные Блока [101] о белках дрожжей.

Принято считать, что поведение свободных аминокислот аналогично поведению аминокислот в белковой молекуле. Это не

мывают разбавленным раствором реагента и определяют общий азот диаминокислот по Кьельдалю.

Примечание. Коссель и Кучер [379] пользовались 20% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 5% (вес) H_2SO_4, а Мэзур и Кларк [442] рекомендуют употреблять 2% H_2SO_4. Винтерштейн [686] нашел, что в этих условиях осаждается цистин.

Осторожная обработка гидролизата активированным углем (Дарко, S — 51) позволяет получить более чистые фосфорновольфрамовые соли без потерь оснований или только с небольшими потерями. Хотя в настоящее время известно, что кроме оснований и цистина фосфорновольфрамовая кислота осаждает небольшие количества других аминокислот, тем не менее этим методом часто пользуются для предварительного исследования, перед определением диаминокислот более точными способами.

Тиман [606] установил, что из 10 *мл* раствора в 5% H_2SO_4 при 0° осаждается 92% аргинина, 92% гистидина, 98% лизина и 11% пролина. Он отмечает, однако, что истинная поправка при каждом белковом анализе значительно выше и варьирует в зависимости от содержания азота в растворе. Теорель [605], работавший с малыми количествами белка, нашел, что растворимость фосфовольфраматов аргинина и гистидина соответствует 11 и 13% их содержания в белке.

По Ван-Сляйку, Гиллеру и Диллону [640], для максимального понижения растворимости фосфовольфраматов диаминокислот требуется некоторый избыток фосфорновольфрамовой кислоты. Однако колебание в содержании ее от 25 до 100 *г* на 1 *л* не оказывает заметного влияния. Они рекомендуют брать 2,5 *г* фосфорновольфрамовой кислоты на 1 *г* белка и избыток в 50 *г* фосфорнювольфрамовой кислоты на каждый литр раствора. Как указывалось выше, концентрация минеральной кислоты HCl должна равняться 0,25 н.

Ван-Сляйк с сотрудниками [640] нашли, что максимум осаждения аргинина и лизина при комнатной температуре достигается через несколько часов, а для полноты осаждения гистидина и цистина требуется 48 час. Для удаления сопутствующих примесей осадок фосфовольфраматов растворяют в минимальном количестве 1,0 н.-NaOH и переосаждают, добавляя соляную кислоту в количестве, необходимом для нейтрализации щелочи и для получения 0,25 н.-кислого раствора. Затем добавляют соответствующее количество фосфорновольфрамовой кислоты (50 *г/л*) и оставляют стоять для полноты осаждения на 48 час. при комнатной температуре.

Поправки на растворимость фосфовольфраматов диаминокислот можно рассчитать, пользуясь кривыми рис. 2 и 3, взятыми из работы Ван-Сляйка, Гиллера и Диллона [640].

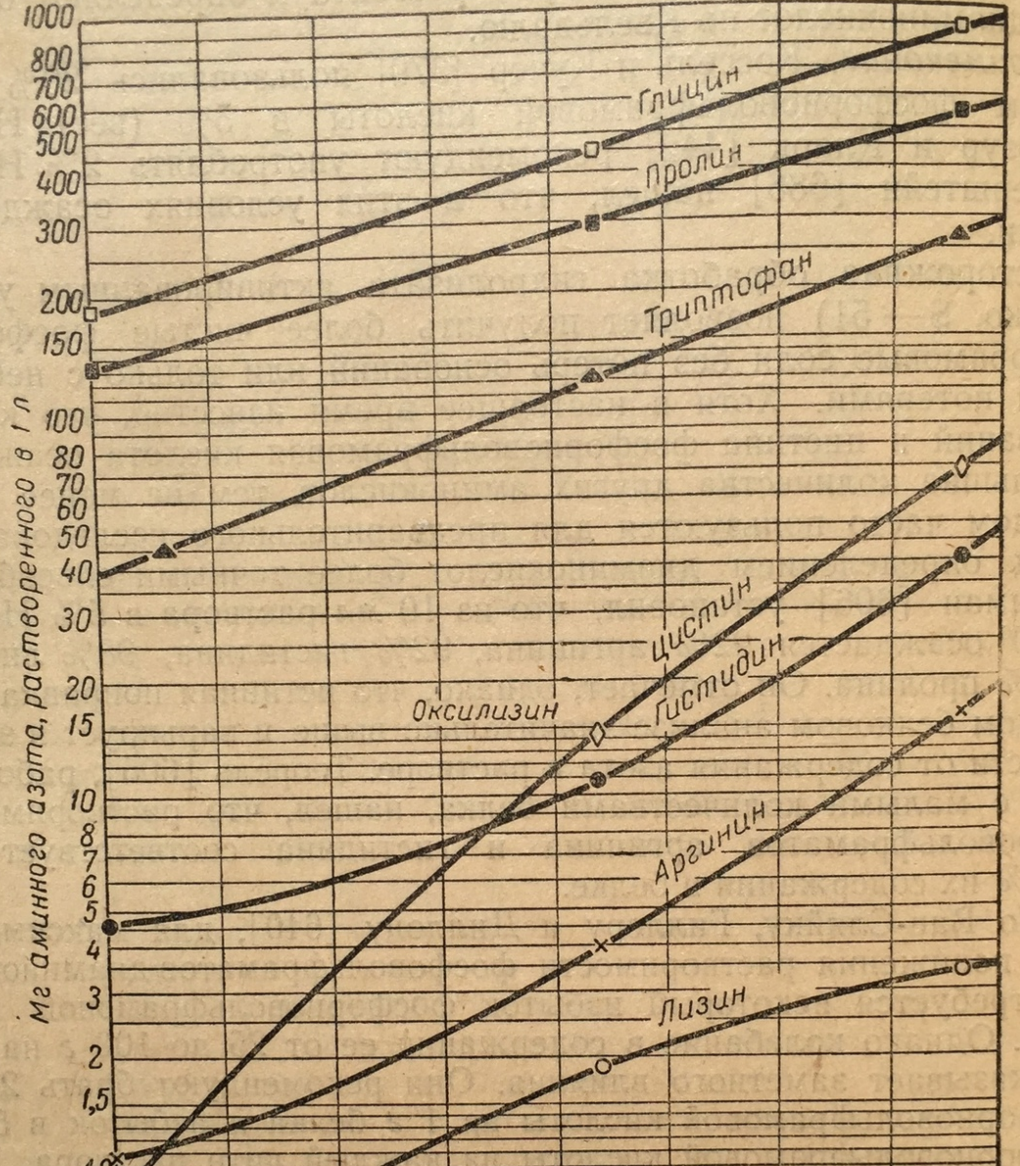


Рис. 2. Влияние температуры на растворимость фосфорновольфраматов аминокислот в присутствии 0,25 н. HCl. Кривая гистидина становится неправильной, когда молярная сумма осаждающихся аргинина и лизина превышает количество гистидина (Д. Ван-Сляйк, А. Гиллер и Р. Диллон, J. Biol. Ch., **146**, № 1, ноябрь 1942 г.).

Б. ОСАЖДЕНИЕ ФОСФОРНОВОЛЬФРАМОВОЙ КИСЛОТОЙ (ВАН-СЛАЙК [630, 633, 634, 639])

Основы метода. *а*) Из гидролизата белка удаляют аммиак.

б) Осаждают диаминокислоты раствором фосфо-24-вольфрамовой кислоты в разбавленной HCl.

в) Удаляют фосфорновольфрамовую кислоту смесью амилового спирта и эфира, по Винтерштейну [686] и Джекобсу.

г) Кипятят аликвотную часть раствора аминокислот с NaOH; при этом только аргинин и цистин выделяют NH_3.

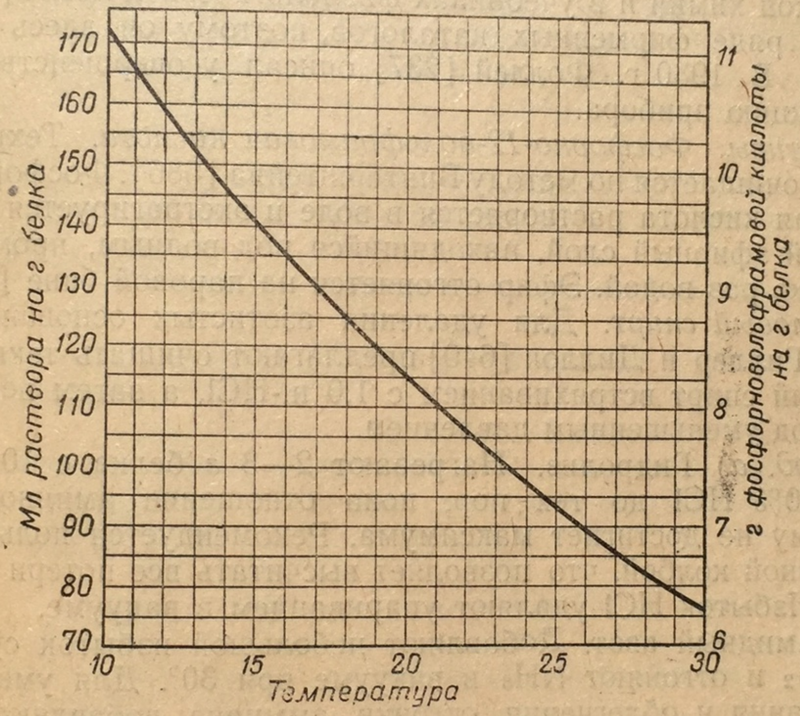


Рис. 3. Объем 0,25 н. HCl и количество фосфорновольфрамовой кислоты на 1 г белка, которые обусловливают, повидимому, оптимальные условия отделения диаминокислот от моноаминокислот в белковых гидролизатах (Д. Ван-Слайк, А. Гиллер и Р. Диллон, J. Biol. Ch., **146**, 1, ноябрь 1942 г.).

д) В аликвотной части определяют серу и высчитывают содержание цистина по сере.

е) Из определения общего, α-аминного и ε-аминного азота можно высчитать содержание гистидина и лизина.

Определение аминогрупп. [628]. Уксусная кислота реагирует с $NaNO_2$, выделяя азотистую кислоту $3HNO_2 \rightleftarrows HNO_3 + H_2O + 2NO$. Окислы азота служат для удаления воздуха из аппарата. Избыток NO улавливается щелочным раствором $KMnO_4 \cdot CO_2$ связывается KOH. Затем вносят аминокислоту; при этом происходит

следующая реакция:

$$RNH_2 + HNO_2 \longrightarrow ROH + H_2O + N_2.$$

Объем азота отсчитывают в газовой бюретке при определенных условиях.

α-Аминогруппы разлагаются при комнатной температуре в течение 5 мин. Для полного дезаминирования ε-аминогруппы лизина требуется 20-минутное встряхивание.

Прибор. Рисунок первоначального и усовершенствованного прибора Ван-Сляйка был приведен в американском журнале биологической химии и в учебниках физиологической химии, а также в целом ряде фирменных каталогов, поэтому он здесь не приводится. В 1930 г. Фоллей [237] описал усовершенствованную конструкцию прибора.

Реактивы. Фосфорно-12-вольфрамовая кислота. Техническая кислота очищается по методу Винтерштейна [686]. Фосфорновольфрамовая кислота растворяется в воде и экстрагируется эфиром. Тяжелый эфирный слой, находящийся под водным, промывается несколько раз водой. Эфир отгоняется на паровой бане [640].

Амиловый спирт. Для удаления азотистых оснований Ван-Сляйк, Гиллер и Диллон [640] предлагают очищать технический амиловый спирт встряхиванием с 1,0 н.-HCl, а затем перегонять спирт под уменьшенным давлением.

Метод. а) Гидролиз. Нагревают 2—3 *г* белка с 10—20 частями 20% HCl до тех пор, пока отношение аминного азота к общему не достигнет максимума. Рекомендуется пользоваться взвешенной колбой, что позволяет высчитать все потери от испарения. Избыток HCl удаляют упариванием в вакууме.

б) Амидный азот. Добавляют небольшой избыток суспензии $Ca(OH)_2$ и отгоняют NH_3 в вакууме при 30°. Для уменьшения вспенивания и облегчения отгонки аммиака добавляют 100 *мл* спирта. Аммиак улавливают в 0,1 н. HCl и определяют его количество обратным титрованием.

в) Азот гуминов. Осадок $Ca(OH)_2$ отфильтровывают, промывают и определяют в нем азот, который составляет азот гуминов.

г) Осаждение оснований. Раствор аминокислот нейтрализуют HCl, затем добавляют последовательно 18 *мл* концентрированной HCl и раствор 15 *г* фосфорно-24-вольфрамовой кислоты в небольшом количестве воды. Реакционную смесь разводят до 200 *мл* и нагревают на паровой бане для растворения осадка. Раствор оставляют стоять на 48 час.; лучше оставлять при комнатной температуре, чем при 0°, чтобы уменьшить степень осаждения моноаминокислот. Такое продолжительное время необходимо для полноты осаждения фосфовольфрамата гистидина. Осадок фильтруют и тщательно промывают 2,5% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 3,5% HCl.

д) Разложение фосфовольфраматов. Осадок разлагают либо растворением в минимальном количестве NaOH и осаждением фосфорновольфрамовой кислоты $BaCl_2$ [630], либо экстракцией [633] суспензии фосфовольфраматов диаминокислот в разбавленной HCl смесью амилового спирта и эфира. Раствор основных аминокислот доводят до желаемого объема.

е) Определение аргинина. 25 *мл* раствора нагревают 6 час. с обратным холодильником с 12,5 *г* KOH. Затем раствор разбавляют 100 *мл* воды и отгоняют NH_3 в титрованную HCl. $NH_3 - N = 1/2$ азота аргинина.

ж) Определение цистина. Так как во время определения аргинина цистин разлагается с выделением 17—18% своего азота в виде аммиака, то важно знать содержание этой аминокислоты. Его устанавливают по определению серы методом Бенедикт — Дениса.

з) Аминный и общий азот. Определение α- и Е-аминного азота в аппарате Ван-Сляйка позволяет вычислить содержание гистидина и лизина.

Гистидин = 1,5 общего неаминного азота — 1,125 азота аргинина.

Лизин = общему азоту — (азот аргинина + азот цистина + + азот гистидина)

или Лизин = 2 × Е-аминный азот.

Примечание. Ван-Сляйк [630] устанавливает растворимость фосфовольфраматов аргинина, лизина и гистидина в условиях своего метода: в 100 *мл* растворяется

азота аргинина	= 1,6 *мг* или аргинина 5 *мг*
азота гистидина	= 1,9 *мг* или гистидина 7 *мг*
азота лизина	= 0,25 *мг* или лизина 1,3 *мг*

В 1941 г. Ван-Сляйк, Гиллер и Макфэдьен [639] установили, что основные аминокислоты осаждаются не в виде индивидуальных соединений, каждое из которых имеет свою характерную растворимость, а в виде смешанных солей. Влияние данной диаминокислоты, содержащейся в малом количестве или образующей более растворимый фосфовольфрамат, чем вся группа диаминокислот в среднем, заключается в уменьшении потерь этой диаминокислоты по сравнению с потерей, вычисленной из растворимости чистого фосфовольфрамата. Было также предложено осаждать основания приблизительно в 0,25 н.-HCl вместо ранее принятой 1,0 н.-HCl (в 1911 г.) (см. *А* выше).

Ван-Сляйк [628] показал также, что цистин дает 107% азота от его теоретического количества, поэтому приходилось вносить поправку. Эта поправка вносилась до тех пор, пока в 1937 г. Кендрик и Ханке [359] не нашли, что прибавление к уксусной

кислоте 2% KI позволяет определить азот цистина и гликоколя в теоретических количествах.

На основании тщательных исследований метода Ван-Сляйка Пиммер и Розедел [518, 520] отмечают следующее: 1) при нагревании с крепкой щелочью гистидин также может выделять некоторое количество аммиака; 2) температура, при которой проводится осаждение фосфорновольфрамовой кислотой (комнатная или 0°), не имеет значения; 3) незначительные расхождения в количествах аминного азота (NH_2 — N) сильно сказываются на конечных результатах; 4) так как поправки на растворимость вообще имеют мало значения в сложных смесях, то ими можно пренебречь, тем более что этим методом пользуются главным образом как сравнительным; 5) «обычный прием расчета до второго десятичного знака неправилен».

Келер [374] внес ряд улучшений в метод определения аргинина, а Нарайяна и Сринивазайя [471] и Кавет [151] — в общий метод. Само собой очевидно, что каждая из аминокислот, осаждаемая фосфорновольфрамовой кислотой, может быть определена одним или несколькими из соответствующих специфических методов: весовым, колориметрическим или газометрическим. Во многих случаях нет необходимости удалять фосфорновольфрамовую кислоту: достаточно растворить фосфовольфраматы, чтобы произвести дальнейшие определения.

В 1915 г. Ван-Сляйк [633] подчеркнул, что этим методом можно пользоваться только при работе с чистыми белками, не содержащими примесей веществ других классов, в особенности азотсодержащих соединений, которые, очевидно, будут искажать интерпретацию получаемых результатов. К сожалению, это замечание не всегда принималось во внимание, и поэтому в литературе имеется много данных по аргинину, лизину и гистидину, которые являются малоценными.

в. РАЗДЕЛЕНИЕ ДИАМИНОКИСЛОТ ЭЛЕКТРОФОРЕЗОМ [27, 172, 182, 261, 393] [8]

История вопроса. Применение электрофореза для отделения диаминокислот от других компонентов белкового гидролизата было опубликовано еще в 1912 г. (японский патент). Однако использование этого метода как предварительного при количественном определении аргинина, гистидина и лизина было, повидимому, введено только Куном и Дэнюэлем [393] в 1937 г.

Аппаратура. Для электрофореза пользуются трехкамерным сосудом емкостью в 100 *мл* или более. Анодом служит платина или уголь, катодом — платина. Содержимое средней ячейки механически перемешивается. Все три ячейки охлаждаются током воды с помощью стеклянных змеевиковых холодильников. Мембранами служат купрофан [393] или полотно, покрытое желатиной, продубленной 4% раствором НСОН (анод), и перга-

ментная бумага (катод) [27] и т. д. Напряжение 110—220 вольт, сила тока 0—1 ампер. Ток для стабилизирования пропускают через лампу на 100—250 ватт, которую включают в общую систему с электролитами. Во всех ячейках должен быть одинаковый уровень жидкости.

Метод. а) Удаление минеральной кислоты [27]. Белок гидролизуют соляной кислотой (1 : 1), доводят объем гидролизата до 100 *мл* и помещают в среднюю часть прибора. После 7—8-часового электролиза все аминокислоты переходят на катод. Полное удаление оснований из средней части устанавливается по реакции Сакагучи или при пробе с фосфорновольфрамовой кислотой. Оно обнаруживается также по внезапному снижению силы тока (Альбанес, [27]).

б) Отделение диаминокислот. Катодный раствор, полученный после первого электролиза, доводят до pH 5,6—6,8 (по бромкрезолкрасному и метилкрасному) [27] или до pH 6 (по бромтимолсинему) [261], помещают в среднюю часть и подвергают повторному электродиализу до исчезновения в средней части реакции Сакагучи [393].

в) Определение аргинина, гистидина и лизина проводят по методу Косселя или Ван-Сляйка, а также комбинированием специфических реакций, характерных для каждого из оснований.

Примечания. Предварительный электрофорез служит для отделения диаминокислот от углеводов и примесей аминокислот не основного характера. В отличие от осаждения фосфорновольфрамовой кислотой электрофорез может быть проведен количественно. Электрофорез особенно полезен в тех случаях, когда гидролизат содержит большое количество пролина, который затрудняет выделение лизина в виде пикрата, или содержит большое количество продуктов распада углеводов, которые препятствуют выделению аргинина и осаждению фосфовольфраматов диаминокислот.

Для полноты отделения оснований от моноаминокислот Гордон, Мартин и Сайндж [261] рекомендуют проводить электрофорез трижды. Гордон, Мартин и Сайндж, Кун и Дэнюэль [393], Альбанес [27], Ксонка [182] и другие успешно применяли метод электрофореза.

г. ОТДЕЛЕНИЕ ДИАМИНОКИСЛОТ СЕЛЕКТИВНОЙ АДСОРБЦИЕЙ [676, 107, 622]

История вопроса. В 1923 г. Уайтхорн опубликовал интересное наблюдение о том, что синтетический цеолит «пермутит» ($2SiO_2$, Al_2O_3 $Na_2O \cdot 6H_2O$), которым пользовался Фолин для удаления аммиака из нейтральных водных растворов, связывает аргинин, гистидин и лизин [9]. Адсорбированные основания могут быть обменены при обработке пермутита насыщенным раство-

ром KCl. Было предложено следующее уравнение реакции:

$$(NH_4Cl) \times (\text{Na пермутит}) = K(NaCl) \times (NH_4\ \text{пермутит}).$$

Хотя способность пермутита к обмену и может быть использована достаточно удовлетворительно для отделения основных аминокислот и аммиака от других продуктов белкового гидролизата, тем не менее пермутит не получил широкого распространения. Это произошло главным образом потому, что для элюирования оснований требуются концентрированные растворы NaCl и KCl. По сведениям авторов, пермутит был удачно применен для предварительного отделения оснований только при реакции Сакагучи [562], видоизмененной Дубновым [199]. Повидимому, в будущем этот реагент будет применяться более широко.

Активированные земли, как, например, фуллерова земля или реагент Ллойда, были широко использованы для концентрирования основных витаминов группы «В», со времени их введения Зайделем. Но для количественного отделения и выделения диаминокислот эти вещества были предложены только недавно — после появления работы Турба [622].

3. ИЗОЛИРОВАНИЕ И РАЗДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПО МЕТОДУ ТУРБА [622]

Реактивы. Белящие земли Filtrol — neutrol и флоридин XXF экстра. Пиридин-серная кислота: 500 *мл* 1,0 н.-H_2SO_4 смешивают со 100 *мл* пиридина и добавляют 400 *мл* воды.

Метод. Так как опыт необходимо проводить быстро, то следует пользоваться тонким слоем адсорбента.

а) Отделение гистидина от моноаминокислот. К тонкому слою из 3 *г* Filtrol — neutrol медленно приливают 2 *мл* раствора, содержащего 5—10 *мг* гистидина и такое же количество моноаминокислот. Количественное «проявление» производится несколькими миллиметрами воды. Адсорбированная масса тщательно промывается 30—60 *мл* воды для удаления моноаминокислот. Гистидин можно затем элюировать 80 *мл* смеси пиридинсерной кислоты или разбавленным растворов $Ba(OH)_2$.

б) Отделение аргинина и гистидина. Смесь, содержащую по 20 *мг* аргинина и гистидина, адсорбируют на 12 *г* флоридина XXF. Гистидин вымывается 200 *мл* воды в течение 1 часа, а аргинин элюируется смесью пиридинсерной кислоты или раствором $Ba(OH)_2$.

в) Разделение аргинина и лизина. К 25 *г* Filtrol — neutrol приливают водный раствор, содержащий 25 *мг* аргинина и такое же количество лизина. Лизин экстрагируют 200 *мл* 6 мол. раствора KH_2PO_4, а аргинин элюируют затем 100 *мл* смеси пиридинсерной кислоты.

Примечание. Возможность использования специфических адсорбентов, синтетических цеолитов и в особенности синтетических смол, обменивающих катион, для разделения и препаративного получения аминокислот была признана только недавно. Новые работы Блока [107] показали, что синтетические смолы, обменивающие ионы, могут быть использованы для полного удаления диаминокислот из раствора.

Раздел 2

ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРГИНИНА

1. ОКИСЛЕНИЕ ДО ГУАНИДИНА (ОРГЛЬМАЙСТЕР [487])

Основы метода. Нейтральный белковый гидролизат окисляют $Ca(MnO_4)_2$. После удаления осадка осаждают гуанидин из нейтрального раствора пикратом натрия.

Примечание. Результаты, полученные Оргльмайстером в 1905 г., не многим ниже тех, которые получались при использовании более новых методов. Хотя этот метод, по мнению Оргльмайстера, и не так точен, как метод Косселя, но он проще и менее трудоемок. Для его выполнения требуются только 4 *г* белка вместо 50—100 *г*, необходимых при работе по методу Косселя.

Насколько известно, это самый первый метод, использующий окисление для количественного определения аминокислот, хотя для качественного обнаружения фенилаланина еще Шульце, Барбьери и Боссгард [577] окисляли последний до фенилацетальдегида.

2. ДИАЦЕТИЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ

А. РЕАКЦИЯ ГАРДЕН-НОРРИСА [282]

Основы метода. В 1911 г. Гарден и Норрис показали, что при обработке слабо щелочного раствора аргинина и некоторых других гуанидосоединений диацетилом ($CH_3COCOCH_3$) появляется красное окрашивание с зеленой флуоресценцией.

Б. МЕТОД ГАРДЕН-НОРРИСА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ЛАНГОМ [399]

Основы метода. Вместо диацетила пользуются ацетилбензоилом. Для удаления избытка кетона употребляют гидроксиламин.

Метод. *а*) Гидролиз. Гидролизуют 200 *мг* белка, 4 *мл* 20% HCl в течение 20 час. Разбавляют раствор до 5 *мл* и удаляют гумины встряхиванием с каолином. Для каждого определения берут 1 *мл* прозрачного фильтрата, который должен содержать 0,2—0,8 *мг* аргинина.

б) Развитие окраски. К 1 *мл* гидролизата прибавляют 1 *мл* 60% раствора KOH в 0,2 *мл* 1% спиртового раствора свежеприготовленного ацетилбензоила. Нагревают 15 мин. на кипящей

водяной бане, охлаждают, прибавляют 1 *мл* 5% раствора $NH_2OH \cdot HCl$ и доводят до 10 *мл*. Через 30 мин. производят отсчет со светофильтром 530 μ. Постороннюю окраску компенсируют по контрольному опыту, который ставят со всеми реагентами, кроме ацетилбензоила.

Примечание. Метод был раскритикован Жаном [317].

3. ГИДРОЛИЗ АРГИНИНА ДО ОРНИТИНА И МОЧЕВИНЫ

А. МЕТОД ЯНСЕНА [316]

Основы метода. В 1916 г. Янсен предложил метод определения аргинина в белковых гидролизатах, основанный на образовании мочевины при действии аргиназы на аргинин и на разложении мочевины до аммиака под действием уреазы.

Б. МЕТОД ЯНСЕНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БОНО И КАНОМ [114]

Основы метода. Аргинин разлагается аргиназой до мочевины и орнитина. Мочевина определяется количественно ксантгидролом.

Реактивы. Аргиназа. Печень убитой путем обескровливания собаки заливают раствором Рингера. Печень растирают с песком и отжимают сок гидравлическим прессом. Белки осаждают и промывают ацетоном. Осадок сушат при 37°, растирают и сохраняют над H_2SO_4. Активность порошка печени контролируют по карбонату аргинина.

Метод. *а*) Гидролиз. 1—3 *г* белка гидролизуют 48 час. 20% раствором HCl. Затем гидролизат автоклавируют с 35% раствором HCl в течение 1,5 часа. Избыток HCl удаляют и обесцвечивают смесь аминокислот древесным углем. Раствор доводят едким натром до pH 9,9.

б) Гидролиз аргинина. К аликвотной части белкового гидролизата добавляют избыток порошка печени и оставляют стоять на 72 часа при 37° в термостате. В качестве антисептика применяют толуол. Затем слабо подкисляют реакционную смесь уксусной кислотой и выпаривают досуха при 60°. Остаток растворяют в 70% уксусной кислоте, нерастворившийся осадок отфильтровывают и промывают.

в) Осаждение мочевины. К реакционной смеси прибавляют 10% метанольный раствор ксантгидрола в двойном количестве от теории и оставляют стоять на 10 час. или на более продолжительное время. Выпавший осадок диксантгидрилмочевины отфильтровывают (Фоссе, [241]), промывают 50 *мл* раствора метанола, предварительно насыщенного диксантгидрилмочевиной, и сушат при 105° С.

Аргинин = 0,414 веса диксантгидрилмочевины.

* В. МЕТОД ЯНСЕН-БОНО, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ГРАФОМ [263]

Реактивы. Приготовление ксантгидрола. 25 *г* ксантона суспендируют в 200 *мл* этанола. Восстанавливают кетон амальгамой ртути (0,9 *г* Na в 980 *г* Hg) при 50—60°. Взбалтывают до полного растворения ксантона и затем еще в течение 10 мин. Раствор центрифугируют и фильтруют через сухой фильтр в 2 *л* холодной воды. Осадок отделяют, промывают ледяной водой до полного удаления NaOH и сушат на воздухе. Ксантгидрол перекристаллизовывают из 100 *мл* абсолютного спирта при —10°. Выход 75%, или 19 *г*.

Реактив Танре $HgCl_2 \cdot KI$. К раствору 1,35 *г* $HgCl_2$ в 25 *мл* воды прибавляют раствор 3,32 *г* KI в 25 *мл* H_2O и разводят полученную смесь до 60 *мл*. Затем добавляют 20 *мл* ледяной уксусной кислоты.

Метод. а) Гидролиз аргиназой. 5—10 *мл* нейтрализованного до pH 6,6 белкового гидролизата обрабатывают 5—10 каплями раствора аргиназы и оставляют стоять ночь при 37°. Затем раствор подкисляют тремя каплями уксусной кислоты и осаждают белки 5—10 каплями реактива Танре. Суспензию разбавляют до 12,5 *мл* и центрифугируют.

б) Осаждение мочевины. 5 или 10 *мл* аликвотной части раствора перемешивают с равным объемом уксусной кислоты, содержащим 10 капель 10% раствора ксантгидрола в метаноле. Спустя 5 мин. прибавляют 1% раствор ксантгидрола в уксусной кислоте, равный по объему исходному раствору, и продолжают перемешивание еще 30 мин. Осадок отфильтровывают, промывают метанолом и насыщенным раствором диксантгидрилмочевины в уксусной кислоте.

Примечание. Взятая аликвотная часть не должна содержать более 1,5 *мг* мочевины. Кич, Лак и Смит [360] определяли диксантгидрилмочевину титрованием $K_2Cr_2O_7$.

Г. МЕТОД ЯНСЕНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ХАНТЕРОМ И ДОФИНЭ [313]

Основы метода. Аргинин гидролизуют аргиназой до мочевины и орнитина, а затем мочевину — уреазой до аммиака. Аммиак определяют титрованием.

Реактивы. Аргиназа. Смешивают отвешенное количество свежеразмельченной печени быка или теленка с 75% раствором глицерина (на каждый грамм печени 1 *мг* раствора). Встряхивают 10 мин. и помещают на водяную баню, нагретую до 62—65°. Перемешивают до тех пор, пока температура реакционной смеси не достигнет 58°, и держат при этой температуре в течение 5 мин. Охлаждают суспензию под краном и фильтруют через мягкий складчатый фильтр. Спустя 12 час. доводят фильтрат до pH 7 добавлением NaOH и устанавливают

активность аргиназы. Если препарат содержит дезаминазу, лучше ее предварительно удалить, чем вводить на нее поправку.

За единицу аргиназы принимают такое количество раствора печени, которое выделяет (при 37° и pH 8,4) 0,5 *мг* азота мочевины из 10 *мг* азота аргинина в течение 30 мин. Хороший препарат содержит 80—100 единиц в 1 *мл*. Раствор сохраняют на холоду. Для реакции употребляют 1 *мл*.

Метод. *а*) Контрольный опыт. Необходимо поставить контрольные опыты и внести поправки: а) на аммиачный и амидный азот белка, б) на аммиак экстракта печени, в) на аммиак уреазы (на аммиак из мочевины экстракта печени), г) на аммиак дезаминазы, если экстракт печени ее содержит.

б) Гидролиз. Хантер и Дофинэ [313] нашли, что все количество аргинина, содержащееся в желатине, расщепляется аргиназой уже после 3-часового гидролиза белка 20% HCl. Более длительный гидролиз заметно понижает выход аргинина. Чем дольше проводится кипячение, тем больше повышается количество образующегося в гидролизате аммиака. Поэтому целесообразно проводить гидролиз нескольких порций белка в течение разного периода времени — от 5 до 24 час., затем удалить HCl в вакууме и нейтрализовать раствор едким натром до pH 6,7. Гидролизат разбавляют таким образом, чтобы в каждых 5 *мл* содержалось 20—40 *мг* аргинина.

в) Действие аргиназы. Опыт проводится в приборе Ван-Сляйка-Каллена для определения мочевины. 4 порции гидролизата по 5 *мл* обрабатывают 2 *мл* 0,25 мол. Na_2HPO_4 + фенолфталеин + 1,0 н.-NaOH до слаборозового окрашивания (pH 8,4). В каждую пробирку добавляют 1 *мл* раствора аргиназы (экстракт печени) и немного толуола. Пробирки помещают в термостат при 37° на 12—24 час., прибавляют каплю фенолкрасного и доводят pH до 6,8.

г) Действие уреазы. В две пробирки вносят по 1 *мл* раствора уреазы. Спустя час прибавляют 9 *мл* насыщенного раствора K_2CO_3 и отгоняют аммиак током воздуха в титрованную кислоту. Для понижения вспенивания прибавляют каприловый спирт.

д) Контрольный опыт. Определение амидного азота. В этом опыте к гидролизату не добавляют аргиназы. Прибавляют уреазу и, после выделения аммиака, его отгоняют током воздуха в титрованную кислоту.

е) Контрольный опыт с ферментами. Смешивают 1 *мл* раствора аргиназы с 3 *мл* воды, доводят pH до 6,8 и обрабатывают уреазой, как описано выше. Выделившийся NH_3 определяют.

Примечание. Если белок образует при гидролизе большое количество гуминов, их можно удалить вместе с амидным азотом, обрабатывая нейтрализованный гидролизат небольшим избытком $Ca(OH)_2$.

Хантер и Дофинэ [313] нашли, что результаты прямого определения аргинина и определения осаждением фосфорновольфрамовой кислотой полностью совпадают, если вносить поправку Ван-Сляйка на растворимость фосфорновольфрамовой соли аргинина. Точность определения: аргиназа — 98,5%, уреаза — 99,4%.

Д. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ХАНТЕРОМ И ПЕТИГРЮ [314]

Основы метода. Хантер и Петигрю возвращаются к первоначальному методу Янсена. Они прибавляют аргиназу и уреазу одновременно. Аммиак определяется манометрически по Петерсу и Ван-Сляйку [516].

Реактивы. Уреаза. 100 *мл* глицеринового экстракта (jack-bean) муки + 2,5 *мл* фосфатного буфера (27,8 *г* Na_2HPO_4 + + 27,0 *г* KH_2PO_4 в 100 *мл* воды).

Смесь ферментов. 10 *мл* раствора аргиназы (см. выше, Хантер и Дофинэ) +4 *мл* уреазы +75% раствор глицерина до 20 *мл* общего объема. Раствор годен в течение 24 час.

Метод. Нейтральный гидролизат (pH 7) подвергают действию смеси ферментов в течение 3—12 час. при комнатной температуре. Затем определяют аммиак манометрически методом Ван-Сляйка.

Примечание. Этот метод, повидимому, очень точен. Подробности см. в работе Хантера и Петигрю [314].

4. ОСАЖДЕНИЕ АРГИНИНА ФЛАВИАНОВОЙ КИСЛОТОЙ

А. МЕТОД КОССЕЛЯ И ГРОССА [384, 386]

Основы метода. В 1924 г. Коссель и Гросс [384] нашли, что аргинин количественно осаждается из слабо кислого гидролизата белка при добавлении значительного избытка 2,4-динитро-1-нафтол-7-сульфокислоты.

Метод. а) 1 *г* белка гидролизуют HCl или H_2SO_4 и доводят реакцию раствора до слабо кислой по конго [386]. Аргинин осаждают добавлением концентрированного водного раствора 4 эквивалентов флавиановой кислоты. Целесообразно перемешивать раствор в течение первых нескольких часов. Для полного образования осадка реакционную смесь оставляют стоять на холоду 2—3 дня. Затем желтый осадок отфильтровывают и промывают холодным разбавленным раствором флавиановой кислоты. Осадок растворяют в горячей воде, добавляя небольшое количество разбавленного раствора аммиака, и нагревают на паровой бане в течение 2 час.; общий объем составляет 100—150 *мл* воды, содержащей небольшое количество флавиановой кислоты. После охлаждения раствора в течение некоторого времени отфильтровывают флавианат аргинина. Оранже-

вый осадок промывают ледяной водой, спиртом и эфиром и сушат до постоянного веса при 95 и 100°.

Примечание. Коссель и Гросс [384] утверждают, что выход аргинина при определении прямым методом получается выше, чем при осаждении в виде серебряной соли.

АРГИНИН В БЕЛКАХ

Белок	Прямой метод, %	Метод серебряных солей, %	
Эдестин	12,4	12,3	12,7
Желатина . . .	8,2	7,2	8,3
Сальмин	44,2	43,8	44,2
Казеин	4,5	4,7	
Арахин	15,4	14,5	

Все данные высчитаны на 16% азота в белке. Вышеприведенные результаты, однако, не являются подтверждением этого тезиса.

Растворимость флавианата аргинина составляет 0,0177% при 19° С и 0,57—0,58% в кипящей воде. В присутствии избытка флавиановой кислоты флавианат аргинина практически нерастворим. Фюрту и Дейчбергеру [251], повидимому, не удалось растворить первоначально образующийся желтый осадок флавианата аргинина. Они утверждают, что при методе Косселя и Гросса флавианат аргинина не получается достаточно чистым, особенно при работе с гидролизатами белков, тканей и органов. Поэтому они предлагают проводить предварительное осаждение фосфорновольфрамовой кислотой и вносить поправку на растворимость фосфовольфрамата аргинина и на другие потери.

* Б. ПРЯМОЙ МЕТОД КОССЕЛЯ И ГРОССА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ВИКЕРИ [656]

Основы метода. Викери [656] нашел, что желтый осадок аргинина с флавиановой кислотой, образующийся на холоду, представляет дифлавианат. При нагревании с водой он превращается в монофлавианат аргинина.

Метод. а) Гидролиз. 20—25 *г* белка гидролизуют с 500 *мл* 20% HCl. Избыток кислоты удаляют в вакууме. Сироп разводят до желаемого объема и высчитывают в нем содержание белка по общему азоту.

б) Обесцвечивание раствора норитом. Кипятят раствор аминокислот с 5 *г* норита и уголь промывают дважды кипящей водой. Фильтрат концентрируют до такого объема, чтобы для осаждения можно было взять 50 *мл* аликвотного раствора.

в) Осаждение дифлавианата аргинина. К 50 *мл* аликвотного раствора, содержащего 5 *г* белка, прибавляют при комнатной температуре 4—5 молей флавиановой кислоты. Для полноты осаждения оставляют стоять раствор в рефрижераторе в течение 4 дней, перемешивая его один раз ежедневно. Желтый осадок отсасывают на тигле и промывают 30 *мл* воды, насыщенной при комнатной температуре флавианатом аргинина.

г) Осаждение монофлавианата аргинина. Перемешивают дифлавианат с небольшим количеством горячей воды, прибавляя по каплям 5 н. раствор NH_4OH до полного растворения осадка. Отсасывают на тигле и промывают водой. Раствор (40 *мл*) нагревают до кипения и при перемешивании прибавляют 1,0 н. H_2SO_4 в небольшом избытке к взятому количеству аммиака. Раствор охлаждают в течение ночи, флавианат аргинина отсасывают, промывают водой (предварительно насыщенной монофлавианатом аргинина), затем спиртом и эфиром. Осадок сушат при 105°. Флавианат аргинина содержит 6,56% серы. Растворимость монофлавианата аргинина в воде:

при 100° — 575 *мг* на 100 *мл* (Коссель и Гросс)
при 24° — 20,0 *мг* на 100 *мл* (Викери)
при 19° — 17,7 *мг* на 100 *мл* (Коссель и Гросс)
при 7,5° — 11,8 *мг* на 100 *мл* (Викери)

Примечание. В случае белков с высоким содержанием гистидина флавианат аргинина может быть загрязнен дифлавианатом гистидина [659].

5. РЕАКЦИЯ С α-НАФТОЛ-ГИПОХЛОРИТОМ

История вопроса. В 1925 г. Сакагучи [562] нашел, что аргинин и другие незамещенные и монозамещенные производные гуанидина дают красное окрашивание с α-нафтолом и NaClO в щелочной среде. Чувствительность этой реакции: 1 часть аргинина на 1 000 000 раствора.

А. МЕТОД САКАГУЧИ [562, 563]

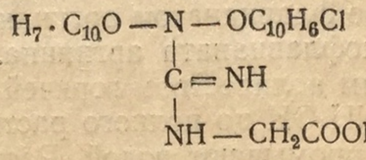
Реактивы. Приготовляют 5% раствор NaClO, прибавляя по каплям 300—330 *мл* HCl (уд. веса 1,17) к 50 *г* $KMnO_4$. Выделяющийся Cl_2 промывают водой и пропускают в 1 *л* 10% раствора NaOH.

Раствор α-нафтола. Растворяют 100 *мг* α-нафтола в 100 *мл* 70% этилового спирта.

Метод. 3 *мл* раствора аргинина доводят до ясно щелочной реакции добавлением NaOH. Добавляют две капли α-нафтола и 1 каплю NaClO. Тотчас появляется красное окрашивание.

Примечание. Реакция удобна для качественного определения. Однако, чтобы получить количественные результаты, необходимо варьировать количества α-нафтола и NaClO до установления максимальной окраски.

Сакагучи представляет реакцию с гуанидил-уксусной кислотой следующим образом:



Б. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ВЕБЕРОМ [673]

Основы метода. NaClO заменен NaBrO. Для разрушения избытка NaBrO, который делает окрашенное соединение аргинина нестойким, пользуются мочевиной.

Реактивы. 0,02% раствор α-нафтола. Разбавляют 20 *мл* 0,1% раствора α-нафтола в 95% спирте водой до 100 *мл.*

NaBrO : 2 *г* брома растворяют в 100 *мл* 5% NaOH. Сохранять на холоду и в темноте. Раствор годен в течение двух недель.

Мочевина: 40% раствор.

Метод. К 5 *мл* исследуемого раствора (0,005—0,05 *мг* аргинина) добавляют 1 *мл* 10% раствора NaOH и 1 *мл* раствора α-нафтола. Охлаждают 2—3 мин. при 4°. Добавляют 0,1—1,0 *мл* холодного раствора NaBrO, взбалтывают и спустя 4—6 сек. после прибавления NaBrO вносят 1 *мл* раствора мочевины. Отсчет производят в течение 5 мин.

Примечание. Отдельными пробами следует установить, сколько прибавить NaBrO для достижения максимума окраски. Целесообразно каждый раз увеличивать добавление на 0,1 *мл.* Количество NaBrO зависит от природы и количества веществ, сопутствующих аргинину в растворе. Если развитие окраски не пропорционально количеству аргинина, то необходимо, чтобы объемы и концентрации исследуемого раствора и стандарта были близки между собой. Когда окраска уже развилась, надо разбавить раствор водой, спиртом или смесью глицерина и спирта (1 : 4). (Дюмазер и Погги [200]).

По Веберу, реакция еще чувствительна при содержании 0,0004 *мг* аргинина в 1 *мл.* Однако Жан [317] указывает, что метод точен только в пределах 0,015—0,035 *мг* аргинина.

Гистидин, тирозин, триптофан, аммиак, соли металлов и т. д. тормозят реакцию.

Джорпс и Торен [345], Дюмазер и Погги [200], Томас, Инголлс и Лак [607], Дубнов [198, 199] и другие внесли ряд незначительных изменений в метод Сакагучи-Вебера. В основном они заключаются в изменении концентрации реагентов, порядка их прибавления, или изменения времени и температуры.

Было предположено компенсировать тормозящее действие аммиака и других веществ вычерчиванием кривой кажущегося содержания аргинина во взятом для анализа количестве белка [127]. Полагают, что при экстраполяции кривой до «нулевой» концентрации белка можно получить «истинное» значение аргинина. Такой общий метод был применен ранее Краусом и Рагинсом для триптофана и Бёшиллом, Лемпитом и Бекером для определения цистина.

В. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ДУБНОВЫМ [199]

Основы метода. Аргинин очищают от гуанидил-уксусной кислоты и других веществ предварительной адсорбцией на пермутите (обмен катионов).

Прибор. Адсорбционная колонка: стеклянная воронка, верхняя часть которой имеет внешний диаметр в 15 *мм*, длина трубки 100 *мм*, диаметр трубки 7 *мм*; нижний конец трубки слегка сужен, чтобы можно было вставить пробку из ваты. По Фолину, употребляют 0,9 *г* пермутита.

Метод. Пропускают медленно через пермутит 5 *мл* раствора и промывают, затем 5 *мл* 0,3% раствора NaCl. Аргинин элюируют 10 *мл* 10% раствора NaCl.

Для определения аргинина по методу Сакагучи-Вебера берут 2 *мл* этого аликвотного раствора. Прибавляют к ним 0,5 *мл* холодного раствора α-нафтол-мочевины (0,2% раствор α-нафтола в абсолютном спирте, разведенный перед употреблением 4 объемами 10% раствора мочевины). Через 2 мин. прибавляют 0,2 *мл* NaBrO (0,66 *мл* Br_2 в 100 *мл* 5% NaOH). Раствор оставляют стоять в течение 20 мин. при 0°. Быстро доводят до комнатной температуры и проводят отсчет со светофильтром 525 μ.

Примечание. Не мешают определению: аммиак в количестве 60 *мг* %, гистидин — 5 *мг* %, тирозин — 8 *мг* %, триптофан — 8 *мг* %, креатин — 20 *мг* % и мочевина — 2000 *мг* %. Более высокие количества гистидина и триптофана вредны.

Г. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ МАКФЕРСОНОМ [434]

Основы метода. Повторное окисление NaBrO почти до максимума.

Метод. Раствор, содержащий 0,04—0,40 *мг* аргинина, разбавляют водой до 10 *мл*. Добавляют по каплям KOH до щелочной реакции на лакмус, затем еще 1 *мл* 10% KOH и 1 *мл* 40% раствора мочевины. Перемешивают и охлаждают под краном. Вносят при перемешивании 1 *мл* KBrO (2 *г* Br_2 в 100 *мл* 5% KOH) и оставляют стоять 2—3 мин. при комнатной температуре. Вторично добавляют мочевину и KBrO. Разбавляют раствор водой до 25 *мл* и дают постоять 10—15 мин. при комнатной температуре. Проводят измерение со светофильтром 530 μ.

Примечание. Это, повидимому, наиболее простое видоизменение метода Сакагучи-Вебера. Однако аналитические результаты не приведены. Возможно, что наилучшим применением метода Сакагучи-Вебера было бы комбинирование метода адсорбции на пермутите (Дубнов) и метода Макферсона.

Никогда не будет лишним подчеркивать влияние гидролиза на количество аминокислоты, найденное в гидролизате. Так, Рош и Блан-Жан [551], которые пользовались иным методом для определения аргинина, чем Хантер и Дофинэ [313], подтверждают наблюдение последних о том, что количество аргинина падает с увеличением времени гидролиза белка. Применяя метод Сакагучи-Дюмазера, они установили [551], что при 24-часовом гидролизе белка соляной кислотой теряется от 15 до 35% общего количества гуанидинных групп.

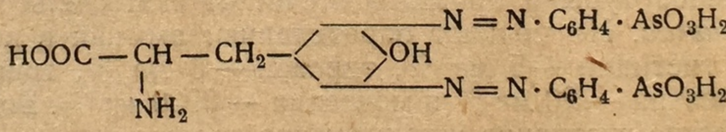
Раздел 3

ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИСТИДИНА

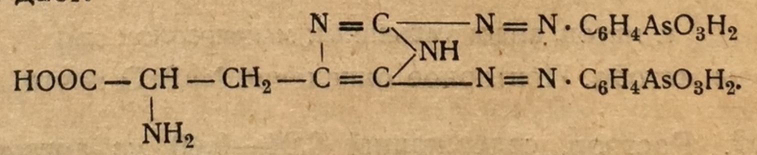
1. ДИАЗОРЕАКЦИЯ (ПАУЛИ)

История вопроса. В 1904 г. Паули [513] сообщил о том, что из всех встречающихся в гидролизате белка аминокислот только тирозин и гистидин окрашиваются в интенсивный красный цвет [10] при обработке щелочного раствора свежеприготовленными растворами диазобензолсульфокислоты или ее аналогов. Реакция чувствительна при концентрации гистидина 1 : 100 000. Было предположено, что образуются следующие соединения [514].

Тирозин с диазотированной арсаниловой кислотой дает:



Гистидин дает:



А. МЕТОД ПАУЛИ-ВАЙСА (1903 г. [674])

Основы метода. Метод Паули применяют в отсутствие тирозина, т. е. при отрицательной реакции Миллона. Можно осадить гистидин из нейтрального раствора $HgCl_2 — Na_2CO_3$ или из слабо щелочного раствора $AgNO_3 — Ba(OH)_2$ (см. методы Косселя).

Реактивы. Диазобензолсульфокислота. Смешивают 4 *г* сульфаниловой кислоты с 40 *мл* концентрированной HCl и добавляют

400 *мл* воды. Перед самым употреблением к раствору прибавляют 2 объема 0,5% $NaNO_2$.

Метод. 10 *мл* раствора гистидина (1 : 10 000) обрабатывают 1,5 *мл* реактива *п*-диазобензолсульфокислоты и 3 *мл* 10% раствора Na_2CO_3. После оптимального развития окраски производят отсчеты.

Б. МЕТОД ПАУЛИ-ВАЙСА, ДОПОЛНЕННЫЙ КЕССЛЕРОМ И ХАНКЕ [375, 278, 279]

Реактивы. *п*-Диазобензолсульфокислота. В мерную колбу на 50 *мл* вносят пипеткой 1,5 *мл* раствора сульфаниловой кислоты (Вайс и Соболев) и 1,5 *мл* 5% $NaNO_2$. Охлаждают 5 мин. во льду и добавляют еще 6 *мл* $NaNO_2$. Тщательно перемешивают, охлаждают во льду еще 5 мин. и разбавляют до 50 *мл*. Раствор сохраняют на холоду, им можно пользоваться в течение 15 мин. после разведения.

Метод. а) (1). Гидролиз соляной кислотой [278]. 1 *г* белка гидролизуют 20% HCl. Избыток кислоты удаляют в вакууме, а гумины и NH_3 — гидратом окиси кальция. Основные аминокислоты осаждают по методу Ван-Сляйка [630] (см. выше) фосфорновольфрамовой кислотой. Осадок отфильтровывают, промывают 200 *мл* раствора, содержащим 18 *мл* 37% HCl и 15 *г* фосфорно-24-вольфрамовой кислоты, предварительно насыщенной фосфовольфраматом гистидина. Промытый осадок растворяют в разбавленном растворе NaOH.

а) (2). Гидролиз серной кислотой [279]. Белок гидролизуют 8 н.-H_2SO_4 и избыток кислоты удаляют баритом. Гистидин осаждают Ag_2SO_4 и баритом по методу Косселя (см. выше). Осадок серебряной соли гистидина разлагают горячим разбавленным раствором HCl.

б) Сочетание с диазобензолсульфокислотой [375]. В кювету или измерительную пробирку наливают пипеткой (I—X) *мл* $H_2O + 5$ *мл* 1,1% раствора Na_2CO_3, затем добавляют 2 *мл* реагента *п*-диазобензолсульфокислоты. Перемешивают в течение 20 сек. и затем точно через 60 сек. прибавляют X *мл* испытуемого раствора. После развития максимальной окраски (обычно через 6 сек.) производят отсчеты. Время проведения всех операций измеряют с точностью до 1 сек.

Примечание. Чувствительность метода: 0,01 *мг* гистидина.

Ханке и Кёсслер [278] нашли, что в вышеуказанных условиях растворимость фосфовольфрамата гистидина составляет 28,6 *мг* на литр.

Высокое содержание цистина и аргинина мешает определению.

Джорпс [346] нашел, что метод Кёсслера-Ханке дает неудовлетворительные результаты, что на интенсивность окраски

в значительной степени влияют условия реакции и что реакция неспецифична, так как ее дают тирозин, фенолы, гуанин, аденин, имидазолы, сульфиды, ионы аммония и т. д.

в. МЕТОД ДИАЗОРЕАКЦИИ, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ДЖОРПСОМ [346]

Метод. К 1 *мл* раствора гистидина (0,005—0,05 *мг* гистидина) добавляют 2 *мл* диазо-реагента Вайса-Соболева и оставляют стоять в течение 1—3 час., затем прибавляют 5 *мл* 1,1% Na_2CO_3. Через 4—8 мин. производят отсчеты со светофильтром 500 μ.

г. МЕТОД ПАУЛИ-ВАЙСА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ЛАНГОМ [401]

Основы метода. Количественно отделяют гистидин от тирозина осаждением $HgCl_2$.

Реактивы. Хлорная ртуть. К 150 *мл* насыщенного раствора $HgCl_2$ добавляют 70 *г* уксуснокислого натрия и 10 *г* хлористого натрия (реактив Гинзберга и Лацло).

Метод. а) Осаждение гистидина. 1 *мл* солянокислого гидролизата, содержащего 30—40 *мг* белка, нейтрализуют насыщенным раствором Na_2CO_3, добавляют 1 каплю 1,0 н. раствора HCl, 1 *мл* реактива сулемы и 2 *мл* 4% раствора $NaBO_2$. Смесь перемешивают и оставляют стоять в течение некоторого времени, затем центрифугируют и промывают осадок.

б) Определение гистидина. Растворяют ртутный комплекс гистидина в 2—3 каплях 5% раствора NaCN и переносят в 50-*мл* мерную колбу. Добавляют 2 *мл* насыщенного раствора Na_2CO_3 и 4 *мл* свежеприготовленного реактива *n*-диазобензолсульфокислоты. Отсчеты производят со светофильтром 530 μ.

д. РЕАКЦИЯ ПАУЛИ, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ МАКФЕРСОНОМ [434]

Основы метода. Сульфаниловую кислоту диазотируют в смеси с гистидином.

Метод. К 10 *мл* водного раствора, содержащего 0,01—0,20 *мг* гистидина, добавляют 1 *мл* 1% раствора сульфаниловой кислоты в 10% соляной кислоте по объему и 1 *мл* 5% раствора $NaNO_2$. Смесь перемешивают и оставляют на 30 мин. при комнатной температуре, затем вносят 3 *мл* 30% раствора соды, вновь перемешивают, прибавляют 10 *мл* спирта, охлаждают под краном и разводят водой до 25 *мл*. Отсчет производят со светофильтром 530 μ.

Примечание. Это, повидимому, наилучшее видоизменение реакции Паули. Гистидин отделяют от тирозина и других веществ фосфорновольфрамовой кислотой [630, 639]. $AgNO_3 \cdot Ba(OH)_2$ [379, 86], $HgCl_2 — Na_2CO_3$ [378, 405, 242] и т. д.

2. РЕАКЦИЯ ГИСТИДИНА С БРОМОМ (ПРОБА КНОПА)

История вопроса. В 1908 г. Кноп [372] сообщил о том, что если обработать водный раствор гистидина или его солей небольшим избытком бромной воды и реакционную смесь нагреть, то раствор сначала обесцвечивается, а затем приобретает красноватый цвет, который переходит в темновиннокрасный. Через некоторое время появляется темный аморфный осадок. Если раствор подщелочить, то окраска сохраняется и осадок не образуется. Из всех многочисленных производных гистидина только имидазолилэтиламин дает окраску. Реакция чувствительна при разведении 1 : 1000.

А. РЕАКЦИЯ КНОПА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ХАНТЕРОМ

Хантер [311] подтвердил наблюдение Кнопа, что избыток брома оказывает вредное влияние во время нагревания, и удаляет его экстракцией хлороформом. После обработки бромом и прибавления аммиака появляется глубокая фиолетовая окраска.

Б. РЕАКЦИЯ КНОПА-ХАНТЕРА, РАЗРАБОТАННАЯ КАПЕЛЛЕР-АДЛЕР [351]

Реактивы. Бром. 1% раствор брома (по объему) в 33% уксусной кислоте.

Аммиак. 2 части концентрированного раствора NH_4OH + + 1 часть 10% раствора $(NH_4)_2CO_3$.

Метод. а) Гидролиз. 2—3 *г* белка гидролизуют 20 час. 25% раствором H_2SO_4, избыток кислоты удаляют баритом. Фильтрат и промывные воды концентрируют до требуемого объема. Для установления содержания белка в аликвотной части гидролизата определяют азот.

б) Отделение гистидина. Аликвотную часть вышеописанного раствора, эквивалентную 500—1000 *мг* белка, упаривают до небольшого объема. Прибавляют спирт до появления осадка. Затем прибавляют $^1/_3$ объема эфира и избыток 10% раствора $HgSO_4$ в 5% H_2SO_4 (реактив Дениже). Оставляют стоять на ночь, отфильтровывают ртутный комплекс гистидина и промывают его спиртом и эфиром. Осадок разлагают H_2O — HCl — H_2S. Фильтрат упаривают досуха и растворяют в 10% H_2SO_4.

в) Разложение тирозина. К 1—2 *мл* раствора гистидина (1—2 *мг* гистидина) прибавляют по каплям 0,1 н.-раствор $KMnO_4$ до слаборозовой окраски. Раствор осторожно нагревают для полного растворения MnO_2.

г) Бромирование. Прибавляют по каплям «бромный реактив» до тех пор, пока желтая окраска не будет постоянной в течение 10 мин. Если она начнет исчезать, добавляют еще несколько капель бромного реактива.

д) Развитие окраски. Прибавляют 2 *мл* «аммиачного реактива» и смесь помещают на 5 мин. в кипящую воду. Затем охла-

ждают и разбавляют раствор «аммиачным реактивом» до 10 *мл.* Появляется глубокая фиолетовая окраска. Отсчет производят со светофильтром 500 μ [352].

Примечание. а) Очистка гистидина. Уллей и Петерсон [691] отделяют гистидин от других компонентов белкового гидролизата, сначала осаждением $AgNO_3 - Ba(OH)_2$ или $HgSO_4$ в растворе H_2SO_4, а затем фосфо-24-вольфрамовой кислотой (см. выше метод Косселя).

Блок [95] рекомендует проводить определение гистидина в фильтрате серебряной соли после удаления из него избытка реагентов.

б) Бромирование. Наиболее тонкая часть реакции Кнопа-Хантера заключается в установлении количества прибавляемого брома. Если его добавлено слишком много или слишком мало, то результаты становятся непостоянными и низкими. Хантер [311] удалял избыток брома хлороформом, Фёльдс [227] добавлял к отдельным порциям разные количества «бромного реактива», пока не устанавливался несомненный избыток, который проверялся добавлением нескольких капель крахмального раствора иодистого калия. Если появлялась синяя окраска, то к новой пробе добавлялось на 0,2 *мл* реагента меньше.

Уллей и Петерсон [691] прибавляли к раствору гистидина бром в избытке и удаляли последний током воздуха до обработки аммиаком.

Конрад и Берг [168] разрушали избыток брома после 10-минутного стояния при комнатной температуре каплей насыщенного раствора As_2O_3 в 10% аммиаке, а Ленглей [402] пользовался для той же цели 0,5% раствором фенола.

в) Развитие окраски. Ракер [536] отказался от работы с NH_4OH по Хантеру. Он прибавлял сухую соду до прекращения выделения угольной кислоты из теплового раствора. Отсчет производился после 10-минутного стояния реакционной смеси при комнатной температуре.

Ленглей [402] вводил бром просасыванием 1,5 *мл* 1% раствора брома в хлороформе. После удаления избытка брома 0,5% раствором фенола добавлялся 1 *мл* насыщенного раствора уксуснокислого натрия и развитие окраски производилось при pH 4,5 нагреванием в течение 1 мин. в кипящей воде в темноте. Раствор затем охлаждался и разбавлялся до 10 *мл* водой.

В. РЕАКЦИЯ КНОПА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ПЛИММЕРОМ И ФИЛЛИПСОМ [519]

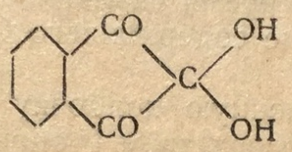
Основы метода. К раствору гистидина, не содержащему тирозина, добавляют стандартный раствор брома в виде раствора $KBr - NaBrO_3$. Избыток Br_2 оттитровывают $KI - Na_2S_2O_3$. Получающиеся результаты непостоянны.

Раздел 4

ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИЗИНА

1. НИНГИДРИННАЯ РЕАКЦИЯ (РУЭМАН — ВАН-СЛЯЙК)

История вопроса. В 1912 г. Руэман [559] нашел, что при нагревании с трикетогидриндегидратом (нингидрин) слабокислого или нейтрального раствора свободных аминокислот последние разлагаются, образуя CO_2, NH_3 и альдегид с содержанием углерода, меньшим на один атом. Исключение составляет гликоколь, который не образует формальдегида.



(нингидрин)

А. МЕТОД ВАН-СЛЯЙКА, ДИЛЛОНА, МАКФЭДЬЕНА И ГАМИЛЬТОНА [636, 637, 638]

Основы метода. Лизин осаждают фосфорновольфрамовой кислотой. После удаления реагентов можно установить содержание лизина из уравнения:

Азот лизина = 2 × (аминный азот — «карбоксильный азот»), где аминный азот определяется по реакции с азотистой кислотой, а «карбоксильный азот» определяется по реакции с нингидрином.

Описание прибора. Углекислоту можно определить в приборе Ван-Сляйк—Нейля для определения CO_2 или, еще проще [638], — в двух эрленмейеровских колбочках на 25 *мл* без носика, соединенных друг с другом U-образной трубкой. Одна из колбочек служит для проведения реакции, другая — для стандартного раствора $Ba(OH)_2$. U-образная трубка имеет небольшую боковую отводную трубочку, которая позволяет создать в аппарате вакуум [638].

Реактивы. Цитратные буферы: pH 4,7; тщательно растирают вместе до тонкого порошка 17,65 *г* $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ и 8,40 *г* $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$.

pH 2,5; тщательно растирают 2,06 *г* $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ и 19,15 *г* $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$.

Фосфорная кислота; pH 1. Смешивают 1 объем H_3PO_4 (уд. вес 1,72) с 1,5 объема воды. Титруют аликвотную часть раствора и доводят до 6,0 ± 0,1 молярной концентрации.

Титрованный раствор $Ba(OH)_2$; 0,25 н. Холодный насыщенный раствор $Ba(OH)_2$ разводят водой, не содержащей CO_2, до 0,3 н. 5 объемов этого раствора смешивают с 1 объемом 12% раствора $BaCl_2$, также приготовленного на воде, не содержащей CO_2. Титрованный раствор $Ba(OH)_2$ доводят до pH 8 титрованием 0,14 н.-HCl, пользуясь в качестве индикатора 1 каплей 1% раствора фенолфталеина.

Буфер веронала; pH 8. 10,3 *г* Na-веронала растворяют в 500 *мл* воды. Смешивают 7 *мл* этого раствора с 4 *мл* 0,07 н. HCl и добавляют фенолфталеин. Этот раствор служит для контроля окраски, до которой следует титровать $Ba(OH)_2$.

Метод. *а*) Доводят реакцию гидролизата до слабокислой по бромфенолсинему.

б) Удаление угольной кислоты из раствора. К 1—5 *мл* раствора, помещенного в эрленмейеровскую колбочку на 25 *мл*, прибавляют 50—100 *мг* цитратного буфера pH 2,5 или 4,7 и 1 каплю каприлового спирта. Удаляют кипячением CO_2, закрывают колбу и охлаждают ее до 15°. В это время удаляют CO_2 из колбочки для титрования током воздуха, не содержащего CO_2, и вносят в нее 3 *мл* 0,25 н. $Ba(OH)_2$.

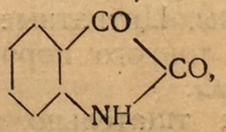
в) Окисление. В реакционную колбочку вносят 50—100 *мг* нингидрина, соединяют ее посредством U-образной трубки и каучука с колбочкой, содержащей $Ba(OH)_2$. Соединяют трубочки встык — стекло к стеклу, создают вакуум с помощью водяного насоса и погружают весь прибор до верхней части U-образной трубки в кипящую воду на 7 мин. или дольше.

г) Отгонка CO_2. Охлаждают водой колбочку, содержащую $Ba(OH)_2$, одновременно нагревая реакционную колбочку до 100°. Взбалтывают 3 мин. для облегчения перегонки и адсорбции всей угольной кислоты.

д) Титрование. Титруют раствор $Ba(OH)_2$ 0,7 н. HCl из бюретки на 5 *мл*, пользуясь в качестве индикатора 1 каплей 1% раствора фенолфталеина. Проводят глухой опыт с реагентами и вычитают полученные результаты.

1 *мл* 0,7 н. HCl = 1 *мг* «карбоксильного азота».

Примечание. Насколько известно, этот метод не применялся для определения лизина в гидролизатах белка.

Ван-Сляйк с сотрудниками [637] указывают, что вместо нингидрина можно пользоваться изатином,  в ледяной уксусной кислоте и хлорамином Т, $CH_3 \cdot C_6H_4 - SO_2 \cdot NClNa$ при pH 2,5 (подробности см. в оригинальной статье).

По Кристенсену, Вест и Димик [161], при обработке лизина нингидрином в слабокислой среде (KH_2PO_4 = буфер) выделяется 112,5% теоретического количества CO_2.

2. РАЗЛОЖЕНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОГРУПП (ВАН-СЛЯЙК — ЛИБЕН)

История вопроса. После того, как в 1911 г. Ван-Сляйк показал, что альфа-аминогруппа лизина реагирует значительно быстрее с азотистой кислотой, чем его эпсилон-аминогруппа, мно-

гие авторы, в том числе Ван-Сляйк и Бирчард [632][11], подчеркивали взаимную связь между числом свободных аминогрупп в нативных белках и содержанием в них лизина. Было предпринято много попыток, чтобы использовать эти наблюдения для разработки простого метода определения лизина. Современные опыты Либена и Лу [420], повидимому, достигли цели.

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИННОГО АЗОТА В НЕГИДРОЛИЗОВАННОМ БЕЛКЕ (ЛИБЕН [420])

Прибор. Пользуются обычным прибором Ван-Сляйка для определения аминного азота. Чтобы избежать забивания прибора частичками белка, применяют широкие капиллярные трубки.

Метод. 60—80 *мг* белка перемешивают в стакане с несколькими каплями воды и затем быстро растворяют в ледяной уксусной кислоте. Раствор смывают в аппарат Ван-Сляйка, который содержит ледяную уксусную кислоту $NaNO_2$, каприловый спирт и т. д. Отсчеты производят через 30, 60 и 90 мин.

Расчеты. Е-аминный азот $= \Sigma = C - 3(B - A)$,

где А — миллиграммы аминного азота, выделившиеся через 30 мин. в расчете на 100 *мг* белка;

В — миллиграммы аминного азота, выделившиеся через 60 мин. в расчете на 100 *мг* белка;

С — миллиграммы аминного азота, выделившиеся через 90 мин. в расчете на 100 *мг* белка.

Лизин $= 146/14 \times \Sigma$.

Раздел 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКСИЛИЗИНА

История вопроса. При определении «лизина» методом Ван-Сляйка с азотистой кислотой получаются всегда более высокие результаты, чем при определении по методу Косселя. (См. Осборн, Ван-Сляйк и др. [505].) Это заставило Ван-Сляйка предположить, что в осадке фосфорновольфрамовой кислоты содержится еще другая основная аминокислота. Это предположение было подтверждено выделением в 1925 г. оксилизина (Шрайвер, Бастон, Маккерджи [570]).

А. КАРБАМАТНЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ОКСИЛИЗИНА ПО ШРАЙВЕРУ

Этот метод, повидимому, не является количественным и будет описан только в общих чертах.

Метод. а) Белок гидролизуют серной кислотой.

б) Аминокислоты осаждаются $Ba(OH)_2$ и CO_2 из спиртового раствора при 0° в виде барий-карбаматов.

в) Барий-карбаматные производные гликоколя и оксилизина нерастворимы в ледяной воде. Таким путем они отделяются от

других аминокислот. Карбаматные производные разлагаются кипящей водой, $Ba(OH)_2$ удаляется полностью угольной кислотой.

г) Оксилизин осаждают в 5% растворе H_2SO_4 фосфорновольфрамовой кислотой и затем очищают осаждением $HgCl_2$ и $Ba(OH)_2$ в слабощелочной среде. После удаления реагентов из осадка $HgCl_2$ оксилизин был выделен в виде пикрата.

Примечание. Это исследование не получило общего признания.

* Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКСИЛИЗИНА ОКИСЛЕНИЕМ ПЕРИОДАТОМ [639]

Основы метода. Оксилизин осаждается 5—8,5% раствором фосфорновольфрамовой кислоты в 0,25 н.-HCl. При действии на оксилизин щелочным раствором периодной кислоты выделяется 1 моль аммиака (Ван-Сляйк, Гиллер и Макфэдьен [639]).

Ход работы. *а*) Гидролиз. 3 *г* белка нагревают 24 часа с 9 *мл* 6 н. HCl. Избыток кислоты удаляют в вакууме, аммиак и гумины, как обычно, с помощью $Ca(OH)_2$.

б) Осаждение фосфорновольфрамовой кислотой. Белковый гидролизат, не содержащий аммиака, разбавляют до 300 *мл*, нейтрализуют и добавляют 6 *мл* концентрированной HCl (приблизительно, 0,25 н.). Затем горячий раствор обрабатывают 25 *г* фосфо-24-вольфрамовой кислоты, растворенной в небольшом количестве 0,25 н. HCl. Оставляют стоять для образования осадка при комнатной температуре (23—25°) на 48 час. Осадок промывают 5 раз порциями по 8 *мл* 5% раствора фосфорновольфрамовой кислоты в 0,25 н. HCl.

в) Переосаждение фосфорновольфрамовой кислотой. Промытый осадок растворяют в 2 н. растворе NaOH. Добавляют его в таком количестве, чтобы раствор стал нейтральным по ализарин красному. Раствор разбавляют до 300 *мл*, прибавляют 6 *мл* концентрированной HCl, нагревают и добавляют 15 *г* фосфорновольфрамовой кислоты, растворенной в небольшом количестве 0,25 н. HCl. Спустя 48 час. стояния при комнатной температуре осадок промывают раствором фосфорновольфрамовой кислоты и растворяют, как описано выше, в NaOH.

г) Окисление. К 5 *мл* фильтрата добавляют 1 *мл* 5% раствора гликоколя, 1 каплю каприлового спирта, 1 *мл* 2 н. NaOH, 2 *мл* 4,6% (0,2 моля) $HIO_4 \cdot 2H_2O$ и 10 *мл* насыщенного раствора K_2CO_3. Аммиак отгоняют в 2% раствор борной кислоты просасыванием воздуха в течение 25 мин.

д) Определение оксилизина. Аммиак оттитровывают титрованной HCl по смешанному индикатору метиловый красный — метиленовый голубой.

Примечание. Ван-Сляйк, Гиллер и Макфэдьен [639] нашли, что диаминокислоты осаждаются не в виде индивидуальных соединений, со своей характерной растворимостью, а в виде смешанных солей. Это оказывает влияние на растворимость диамино-

кислоты, содержание которой в растворе мало или которая образует более растворимую фосфорновольфрамовую соль. В этом случае потери от растворения будут меньше, чем высчитанные из растворимости фосфовольфрамата чистой диаминокислоты. Поэтому нельзя ввести простую поправку на растворимость фосфовольфрамата оксилизина. Если общее количество азота диаминокислот ниже 10% общего азота гидролизата, то целесообразно добавить соответствующее количество аргинина или лизина, чтобы довести концентрацию азота диаминокислот до 15—20% от общего. Следует отметить, что фосфорновольфрамовокислый натрий не оказывает влияния на окисление оксилизина или на отгонку аммиака.

Раздел 6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТРУЛИНА

А. ДИАЦЕТИЛЬНЫЙ МЕТОД ФИРОНА [217]

Основы метода. В сильно кислой среде диацетил $CH_3COCOCH_3$ не дает окраски с аргинином и другими производными гуанидина (см. выше реакцию Харден-Норриса), но реагирует с цитрулином и замещенными производными мочевины [217].

$$\text{Цитрулин}\ NH_2-CO-NH-CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH$$

Метод. Растворяют небольшое количество белка в 2 *мл* разбавленной HCl и добавляют 4 *мл* концентрированной HCl и 3—5 капель 3% водного раствора диацетил-монооксима. Раствор кипятят в течение 30 сек., охлаждают 2 мин. и добавляют 1—3 капли 1% раствора $K_2S_2O_8$. Появляется карминовое окрашивание, особенно при слабом нагревании.

Примечание. Триптофан или углеводы должны отсутствовать в испытуемом растворе, так как они дают в этих условиях реакцию Молиша. Чувствительность реакции — 0,01—0,2% цитрулина.

Б. РЕАКЦИЯ ФИРОНА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ГОРНОЛЛОМ И ХАНТЕРОМ [262]

Метод. К 7 *мл* испытуемого раствора (0,05—0,07 *мг* цитрулина) прибавляют 4 *мл* концентрированной HCl (уд. в. 1,18—1,19) и 0,5 *мл* 3% раствора диацетил-монооксима. Пробирки с раствором погружают на 9 мин. в слегка кипящую водяную баню так, чтобы вся реакционная смесь была погружена в воду. Холодильниками служат воронки. Вынимают пробирки и охлаждают 6 мин. Добавляют 1 каплю 1% раствора $K_2S_2O_8$ и, после развития максимальной окраски, производят отсчет в колориметре системы Эвелин со светофильтром 490 μ. Когда стрелка гальванометра установится, добавляют вторую каплю раствора

$K_2S_2O_8$. Если при этом окраска увеличится, добавляют еще 3-ю каплю.

Примечание. Интенсивность окраски является функцией концентрации реагентов, времени нагревания и т. д. Мочевина, аллантоин и замещенные мочевины мешают определению.

Раздел 7

СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКАХ

Все данные, приведенные ниже в таблицах, рассчитаны на 16,0% азота. В тех случаях, когда авторы не приводят содержания азота, данные по аминокислотам пересчитаны на азот, указанный в скобках. Если исследователь выражает количество аминокислоты в процентах от общего азота, то эти величины тоже пересчитаны на 16% общего азота, но в таблице содержание азота не указывается. Таким образом, при желании читатель может легко пересчитать все данные на азот аминокислоты в процентах общего азота.

Подобного рода пересчет связан в некоторых случаях с ошибками. Все же мы полагаем, что преимущества подобного рода пересчета превалируют над недостатками, особенно в тех случаях, когда полученные данные используются для сравнительных целей при исследовании в области питания. Наши собственные результаты как опубликованные, так и неопубликованные также пересчитаны на 16% азота, и внесены поправки на «общие потери». Если содержание азота в анализированных препаратах было ниже 12%, то к выделенным количествам аминокислот прибавлялись: 28 *мг* аргинина, 12 *мг* гистидина и 28 *мг* лизина. В тех случаях, когда содержание азота в анализированных препаратах было выше 12%, пользовались следующими поправками: 18 *мг* на аргинин, 9 *мг* на гистидин, 14 *мг* на лизин.

Так как мы не установили «общих потерь» для количеств белка свыше 2,5 *г*, то вышеприведенные поправки вносились только в тех случаях, когда для гидролиза брали 2,5 *г* белка или меньше. Если для анализа употребляли более 2,5 *г*, то поправку вносили только на аргинин, пользуясь для этого фактором Гулевича [270].

Хотя приведенные в таблицах данные понятны сами по себе, но все же полезно привести краткие объяснения. Так, обозначения «наиболее правильные данные» приведены только для удобства читателя и являются личным мнением авторов. Средние значения высчитаны из удвоенной средней ошибки (2 × S. E.) по уравнениям:

$$S.\,E. = \frac{S.\,D.}{\sqrt{N}}, \quad S.\,D. = \sqrt{\frac{\sum x^2 - x^2}{N-1}},$$

где Σx^2 — сумма квадратов отдельных определений,
N — число определений,
x^2 — квадрат среднего значения,
S. D. — среднее отклонение,
S. E. — средняя ошибка.

В некоторых случаях ряд данных был включен в таблицы после вычисления средней величины, и поэтому они не вошли в расчет.

АЛЬБУМИНОИДЫ

Содержание основных аминокислот в *желатине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель, электрофорез	Альбанес — 27	16,1	5,7	1,2	3,6	лизин только по азоту
Коссель, электрофорез	Альбанес — 27	15,2	5,8	0,7	5,3	лизин только по азоту
Коссель-Блок	Не опубликовано	14,7	8,2	0,7		Difco
Коссель-Блок	Не опубликовано	16,6	7,2	0,8	4,3	кожа свиньи (Вильсон)
Коссель-Блок	Не опубликовано	16,0	7,9	1,0	4,5	кость (Вильсон)
Коссель-Блок	Не опубликовано	15,4	7,7	0,8	4,3	Coignet
Ван-Сляйк	Дакин — 185	18,0	7,3	0,8	5,2	
Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	17,0	9,1			
Коссель-Гросс	Фюрт — 251	17,0	7,7			
Янсен-Граф	Граф — 263		7,8			
Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(16,0)		0,5		
Коссель-Кучер	Харт — 283	16,0	7,6	0,4	2,8	
Янсен-Хантер	Хантер — 313		7,8			
Янсен-Хантер	Хантер — 314		7,8			
Коссель-Кучер	Коссель — 379	(16,0)	9,3			только по N
Коссель-Гросс	Коссель — 384		8,2			
Ван-Сляйк	Нарайяна — 471		7,9	1,6	3,4	
Сакагучи	Сакагучи — 563		7,6			
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 631		7,3	2,6	5,3	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639					0,7—0,8% оксилизина
Коссель-Викери	Викери — 656	18,3	7,6			прямое определение
Либен-Лу	Либен — 420	15,9			4,7	
„Наиболее правильные данные"		18,0	8,0	0,8	4,5	
Среднее и 2×S. E.			7,6±0,1	1,0±0,1	4,3±0,2	

АЛЬБУМИНОИДЫ

Содержание основных аминокислот в *эластине, коллагене* и *аналогичных белках*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Эластин	Коссель-Блок	Штейн — 586	17,1	0,9	0,0	?
Хрусталик	Коссель-Кучер	Хийиката — 298	(16,0)	3,3	1,6	1,6
Нейрожелатина	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,7	7,8	1,5	5,4
Желатина рыбы*	Коссель-Блок	Не опубликовано	11,8	5,4	2,6	4,1 „Stick"
Желатина рыбы	Шрайвер	Шрайвер — 570		3,1% оксилизина		

Примечания к таблицам «Альбуминоиды»

Желатина. Колебания в содержании основных аминокислот в желатине вызваны отчасти действительными различиями в составе, а не только экспериментальными ошибками.

Эластин. Этот белок почти совсем не содержит основных аминокислот.

Желатина, полученная из рыбы, так называемая «stick water», повидимому, богаче гистидином, чем обычные желатины животных. Она, вероятно, даже менее однородна по составу, чем желатина животных.

БЕЛКИ ЖИВОТНЫХ

Содержание основных аминокислот в *белках животных*[a]

Высчитано на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Крыса	Коссель-Блок	Блок — 87	15,2	6,1		5,2
Крыса, возраст 1—2 дня	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,3	6,2	2,8	6,1
Крыса, возраст 2—3 дня	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,2	7,1	2,3	6,5
Крыса, возраст 100 дней	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,4	7,1	1,8	5,6
Крыса, возраст 540 дней	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,2	7,3	1,7	6,5
Морская свинка	Коссель-Блок	Блок — 87	12,6	6,7		5,6
Цыпленок	Ван-Сляйк	Пэттон — 512		5 *	4 *	9 *
Цыпленок, эмбрион	Коссель-Колвери	Колвери — 141	(15,0)	5,8	1,4	6,6
„Наиболее правильные данные"			16,0	7,0	2,2	6,2
Среднее 2 × S. E.				6,6±±0,4	2,0	6,0±±0,3

* Не включено в расчет средней величины.

[a] В % к общему весу. (*Прим. перев.*)

Белки животных

Анализ организма животных показывает, что в нем содержится около 7% аргинина, свыше 2% гистидина и 6% лизина. Отсюда логически следует, что для быстрого роста животного белковая пища должна содержать эти три аминокислоты приблизительно в тех же соотношениях. Это особенно справедливо для гистидина и лизина, которые, повидимому, не синтезируются млекопитающими даже в малых количествах.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *фибрине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Бык	Коссель-Викери	Викери — 656	16,8	7,8			прямым опред.
Бык	Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(17,5)		1,9		
Бык	Сакагучи-Паули	Джорпс — 344	16,8	7,6	2,1		
Бык	Кноп-Капеллер	Капеллер-Адлер — 351	(17,5)		3.2		
Бык (?)	Янсен-Хантер	Хантер — 313		7,1			
Бык (?)	Сакагучи	Сакагучи — 563		6,9			
Бык (?)	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		6,9	2,8	9,7	
Бык	Электрофорез, Коссель	Альбанес — 27	15,2	7,0	2,2	6,0	лизин по азоту
Бык	Коссель-Викери	Бергман — 66	17,7	6,7	2,3	9,0	исправлено
Бык	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(17,5)	6,3			
Овца	Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(17,5)		2,0		
Свинья	Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(17,5)		2,1		
Лошадь	Коссель-Кучер	Лок — 422		4,7	2,2	5,4	
„Наиболее правильные данные“			17,0	7,8	2,4		
Среднее и 2 × S. E.				6,8±±0.6	2,3±±0,2	7,5	

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *гемоглобине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Лошадь	Коссель-Блок	Блок — 84	16,7	3,5	7,7	8,2
Лошадь [а]	Коссель, электрофорез	Альбанес — 27	13,4	3,5	8,5	5,9
Лошадь	Коссель-Викери	Викери — 645	16,7	3,2	7,3	7,7
Лошадь [б]	Коссель-Викери	Викери — 656	16,7	3,4		
Лошадь [б]	Коссель-Викери	Викери — 659	16,7	3,4	7,3	
Лошадь	Сакагучи, Паули	Джорпс — 344	16,8	3,2	7,4	
Лошадь	Кноп-Капеллер	Капеллер-Адлер — 351	(16,8)		7,1	
Лошадь	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(16,8)	4,2		
Лошадь	Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(16,8)		8,4	
Лошадь	Ван-Сляйк	Хантер — 312	16,9	3,9	7,3	9,1

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Овца [б]	Коссель-Викери	Викери — 659	16,9	3,7	7,0 *	
Овца	Коссель-Блок	Блок — 84	16,8	3,9 *	7,3	7,9
Овца	Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(16,8)		8,4	
Бык	Коссель-Викери	Бергман — 67	17,0	2,9	7,0	7,5 *
Бык	Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(16,8)		7,5 *	
Бык	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		3,8	7,5	9,2
Собака	Коссель-Блок	Блок — 84	16,4	4,0	7,4	8,5
Кошка	Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(16,5)		8,3	
Человек [б]	Коссель-Викери	Викери — 659	17,0	4,0	7,6	
Черепаха морская	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,5	2.8	4,6	
„Наиболее правильные данные“			16.7	3,5	7,4	
Среднее и 2×S. E.				3,5± ±0,3	7,6± ±0,4	7,7

* „Наиболее правильные данные“.

а Лизин по азоту.

б Прямое определение.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *глобинах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Бык [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,6	3,3	7.5	8,2
Бык	Сакагучи-Дюмазер	Дюмазер — 200		3,6		
Лошадь [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,8	3,4	7,6	7,6
Лошадь (?)	Янсен-Хантер	Хантер — 313		3,8		
Собака [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,6	3,3	8,0	8,0
Морская свинка	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16.7	3,3	8,5	8,9
Человек [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,7	3,3	8,2	8,8
Человек	Коссель-Блок	Не опубликовано	16.2	3,4	7,4	
Кролик [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16.6	3.3	8,3	8,4
Овца [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,8	3,4	7,6	8,0
Овца [а]	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 550	16,3	3,4	7,7	8,5
„Наиболее правильные данные“			16,7	3,4	8,0	8,0
Среднее и 2×S. E.				3,4± ±0,1	7,9± ±0,3	8,3± ±0,3

а Сакагучи.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *серумальбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Бык [a]	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,7	5,7	3,0	7,6
Бык [б]	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,7	5,3	3,0	7,2
Бык [б]	Коссель-Блок	Блок — 81	14,4	5,2	2,4	10,4
Бык [б]	Коссель-Блок	Блок — 81	14,4	5,7	2,4	10,3
Бык	Сакагучи	Сакагучи — 563		5,1		
Человек	Коссель-Блок	Мюррилль — 469	13,5	5,3	2,6	10,4
Человек	Харден-Лянг	Лянг — 399	(16,0)	4,1		
Человек	Паули-Лянг	Лянг — 401			2,8	
Человек	Ван-Сляйк	Каветт — 153		6,2		14 6
Человек	Сакагучи	Бранд — 127	(16,0)	6,3		
Лошадь [в]	Коссель-Кучер	Лок — 422		4,6	2,6	8,3
Лошадь	Сакагучи	Бранд — 127	16,0	5,5		
„Наиболее правильные данные“			15,8	5,5	2,8	10,0
Среднее и 2 × S. E.				5,2± ±0,4	2,7± ±0,2	9,8± ±1,9

[a] 1 : 4 3 мол·PO_4 буфер.
[б] 1/2 насыщенный раствор $(NH_4)_2SO_4$.
[в] Кристаллический.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *серумглобулине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Бык [a]	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,2	5,3	2,3	6,1
Бык [б]	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,1	5,0	2,7	5,8
Бык [б]	Коссель-Блок	Блок — 81	14,2	5,6		7,0
Бык [б]	Коссель-Блок	Блок — 81	14,2	5,8		6,9
Бык	Сакагучи	Сакагучи — 563		5,0		
Человек	Коссель-Блок	Мюррилль — 469	14,0	4,7	2,3	7,0

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Человек	Харден-Лянг	Лянг — 399	(16,0)	4,2		
Человек [в]	Ван-Слайк	Каветт — 153	16,0	5,4	1,4	10,9
Лошадь	Сакагучи-Паули	Джорпс — 344	15,5	5,7	2,2	
Лошадь	Коссель-Кучер	Лок — 422		3,8	1,4	5,2
Лошадь [г]	Коссель-Колвери	Колвери — 144	16,0	5,7	1,1	4,9
Лошадь [г]	Коссель-Колвери	Колвери — 145	(16,0)	5,0	1,0	5,4
Собака	Сакагучи-Томас	Томас — 607	(16,0)	6,4		
„Наиболее правильные данные"			16,0	5,3	2,4	6,5
Среднее и 2×S. E.				5,2± ±0,4	1,8± ±0,5	6,6± ±1,2

[а] 1 : 4 3 мол. PO_4 буфер.
[б] ½ насыщенный раствор $(NH_4)_2SO_4$.
[в] Псевдо.
[г] Осадок Pneumococcus.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *белках серума человека*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Коссель-Блок	Блок — 105	14,7	5,0	2,3	6,7
Коссель-Блок	Блок — 105	15,9	5,1	2.5	6,7
Коссель-Блок	Блок — 105	15,0	5,8	3,1	7,3
Коссель-Блок	Блок — 105	15,0	5,5	2,6	7,3
Коссель-Блок	Блок — 102	15,2	5,7	2,5	7,6
Коссель-Блок	Блок — 102	15,2	5,4	2,6	7,1
Коссель-Блок	Блок — 102	15,0	5,5	2,7	6,8
Коссель-Блок	Блок — 102	14,9	5,1	2,6	7,4
Коссель-Блок	Блок — 102	14,3	5,5	3,1	7,6
Коссель-Блок	Блок — 102	14,9	5,3	2,8	9 0
Коссель-Блок	Блок — 102	14,9	5,9	2,6	6,9
Коссель-Блок	Блок — 102	14,9	5,6	2,7	7,1
Коссель-Блок	Блок — 82	14,1	5,6		7,6
Коссель-Блок	Блок — 82	14,1	5,8		8,4
Коссель-Блок	Мюрриль — 469	14,3	5,2	2,5	9,6
„Наиболее правильные данные"		15,2	5.6	2,6	
Среднее 2×S. E.			5,5± ±0,3	2,6± ±0,1	7,5± ±0,5

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *патологической сыворотке* и в *белках мочи человека*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин %
Сыворотка	Коссель-Блок	Блок — 82	15,2	5,5		6,4 Нефроз
Сыворотка	Коссель-Блок	Мюрриль— 469	14,7	5,2	2,5	9,6 Нефрит
Сыворотка	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,1	5,2	2,2	5,7 Миэлома
Моча	Коссель-Блок	Блок — 82	14,6	5,5		8,1 Нефроз
Моча	Коссель-Блок	Мюрриль— 469	15,1	5,6	2,5	10,4 Нефрит
Моча	Ван-Сляйк	Каветт — 153		6,0	0,9	13,9 Альбумин
Моча	Ван-Сляйк	Каветт — 153		5,3	1,5	9,2 Глобулин
Моча	Коссель-Блок	Девайн — 195	14,7	3,9	1,0	4,4 Бенс-Джонс
Моча	Коссель-Колвери	Колвери — 143	18,1	5,2	1,2	7,0 Бенс-Джонс
Моча	Коссель-Кучер	Гопкинс — 308	16,2	6,0	0,8	3,7 Бенс-Джонс

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *саруме* и *плазме собаки*

Высчитано на 16% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	12,2	5,8	1,8	9,1 *
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	11,6	5,8	1,9	8,9
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	14,4	5,9	1,9	8,2
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	12,7	6,0	1,8	7,8 *
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	12,2	6,0	1,8	8,2
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	14,1	5,6	2,0	9,2
Коссель-Блок	Мюрриль — 470	14,2	5,8	1,9	8,1
Сакагучи-Томас	Томас — 607	(16,0)	5,6 *		
Сакагучи-Томас	Томас — 607	(16,0)	4,5		
Коссель-Блок	Не опубликовано	14,5	6,1		8,6
Коссель-Блок	Не опубликовано	14,7	6,2		8,7
Коссель-Блок	Не опубликовано	14,6	6,6		8,6
„Наиболее правильные данные"		15,0	6,0	1,9	8,5
Среднее и 2 × S. E.			5,8 ± ±0,3	1,9 ± ±0,1	8,5 ± 0,3

* Плазма.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *белках сыворотки животных* (*кроме человека и собаки*)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Лошадь	Сакагучи-Паули	Джорпс — 344	15,5	5,7	2,2	
Курица	Коссель-Блок	Блок — 83	15,4	6,4	2,0	5,8
Индюк	Коссель-Блок	Блок — 83	16,0	7,2	2,5	6,2
Утка	Коссель-Блок	Блок — 83	15,4	6,9	2,7	6,3
Корова	Коссель-Блок	Блок — 83	14,2	5,6		7,9
Черепаха	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,9	5,1	2,9	3,2

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание основных аминокислот в *белках стромы* и *клеток*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Лошадь	Сакагучи-Паули	Джорпс — 344	15,4	6,4	2,9		
Лошадь	Коссель-Блок	Бич — 55	12,9	6,1	2,4	4,7	
Бык	Коссель-Блок	Эриксон — 213	13,7	5,8	2,0	5,3	Эмбрион
Бык	Коссель-Блок	Бич — 55	13,8	5,9	2,2	4,1	
Овца	Коссель-Блок	Бич — 55	14,0	6,1	2,6	4,0	
Собака	Коссель-Блок	Бич — 55	13,1	5,6	2,6	4,3	
Человек	Коссель-Блок	Бич — 55	13,0	5,9	2,6	4,7	
Человек	Коссель-Блок	Эриксон — 213	13,1	6,1	2,2	5,0	Polycythemia vera
Человек	Коссель-Блок	Эриксон — 213	13,7	4,0 *	2,5 *	3,6*	Polycythemia cardiac
Человек	Коссель-Блок	Блок — 105	16,3	3,2	6,3	6,9	Клетки
„Наиболее правильные данные“			15,4	6,1	2,6	4,8	
Среднее и 2 × S. E.				6,0±±0,2	2,4±±0,2	4,6±±0,4	

* Не включены в расчет средней величины.

Примечания к таблицам „Белки крови"

Фибрин характеризуется, повидимому, высоким содержанием лизина, но количество его в белке еще не установлено достаточно точно. Белки разных животных несколько отличаются друг от друга.

Гемоглобины и глобины характеризуются, как известно, необычайно высоким содержанием гистидина. Они являются также хорошим источником для получения лизина. Гемоглобины и глобины отдельных видов животных отличаются, вероятно, друг от друга небольшими, но вполне определенными колебаниями в составе. Исключение составляет гемоглобин морской черепахи, который резко выделяется из всей группы по содержанию аргинина и гистидина.

Альбумины и глобулины сыворотки представляют очень сложную смесь белков, состав которой изменяется в зависимости от метода приготовления. Серумальбумины являются превосходным источником для получения лизина. Отсюда логически следует, что в тех случаях, когда в организме происходит восстановление альбумина сыворотки, пища должна быть богата лизином.

Белки сыворотки. Изменения в аминокислотном составе суммы белков серума (orosins) в нормальном и патологическом состоянии служили в большей мере объектами исследования, чем изучение аминокислотного состава альбуминов и глобулинов. Это лишает возможности использовать результаты проведенных экспериментов. Хотя в этих исследованиях и получаются химически гомогенные белковые фракции, но, повидимому, эти белки представляют собой только артефакты.

Хотя число исследований патологической сыворотки очень невелико, все же из них, повидимому, следует, что белки сыворотки при нефрите или нефрозе в основном характеризуются нормальным содержанием основных аминокислот. Напротив, при множественной миэломе в белках наблюдается пониженное содержание лизина.

На основании исследований белков Бенс-Джонса можно заключить, что содержание в них диаминокислот сильно колеблется.

Аминокислотный состав белков сыворотки может также характеризоваться действительными видовыми различиями. Однако так же, как у гемоглобинов, эта разница скорее количественная, чем качественная. Исключение составляют белки сыворотки крови птиц и в особенности морской черепахи, которые, повидимому, резко отличаются по содержанию лизина.

Белки стромы. Эти белки были подробно изучены только одной группой исследователей [55, 213]. Авторы нашли, что состав этих белков изменяется в зависимости от того, получены ли препараты из здорового или больного животного.

БЕЛКИ МОЗГА

Содержание основных аминокислот в *белках мозга психически здоровых* и *больных индивидуумов* (94, 89, 92, 90 и неопубликованные результаты)

Высчитано на 16,0% азота

Причина смерти	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Мозговое кровоизлияние	13,7	6,5	2,8	6,8	♂
Мозговое кровоизлияние	14,9	6,2	1,8	6,1	♂
Травма	15,1	6,2	2,4	6,2	♂
Травма	13,0	7,4	3,2	6,8	
Травма	15,1	6,5	2,4	6,2	♂
Травма	14,2	6,4	3,4	6,3	♂
Самоубийство	14,0	6,6	2,9	6,9	♂
Самоубийство	12,8	6,4	2,3	6,7	♂
Самоубийство	13,2	6,9	2,7	6,4	♂
Алкоголизм	14,9	6,3	1,9	6,2	♂
Алкоголизм	15,0	6,5	2,3	6,6	
Артериосклероз	13,4	6,8	2,2	6,4	
Диабетическая кома	13,4	6,9	2,9	6,0	♀
Послеродовой сепсис	13,9	6,4	2,9	6,0	♀
Аневризм	12,7	6,6	2,8	6,4	♀
Закупорка коронарной артерии	13,6	7,2	3,0	6,4	
Среднее и 2 × S. E.		6,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	6,4 ± 0,1	
Инфекция	14,3	6,8	2,5	6,6	Фенилпировиногр. олигофрения
Неизвестна	12,0	6,6	2,4	3,9	Болезнь Краббе
Неизвестна	14,1	6,1*	1,5*	3,1*	Амавротический идиотизм

* Наивысшие значения четырех хорошо совпадающих повторных экспериментов.

БЕЛКИ МОЗГА

Содержание основных аминокислот в *мозге обезьяны* (ссылки 89, 92, 90 и неопубликованные результаты)

Высчитано на 16,0% азота

	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Молодой самец	12,8	7,4		6,3
Взрослый самец	14,3	6,5	2,7 *	6,9
Взрослый самец	14,4	6,4	1,9 *	6,7
Взрослый самец	14,7	6,6	2,1 *	6,3
Мозжечок, самец	14,9	6,8	2,7	6,7
Мозговые полушария, самец	13,9	6,3	2,7	6,3
Средний мозг, самец	14,6	6,9	2,5	5,1
Мертворожденный самец	14,6		2,2	
Мертворожденная самка	14,5	6,3	2,5	7,2
Взрослая самка	14,2	6,1	2,4 *	6,1
Взрослая самка	14,2	6,2	2,3 *	5,4
Взрослая самка	14,0	6,7	3,2 *	5,4
Взрослая самка	14,8	6,5	2,6	6,2
Мозжечок, самка	15,1	6,7	2,6	6,7
Средний мозг, самка	14,6	6,8	2,3	6,0
Среднее и 2 × S. E.		6,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2	6,2 ± 0,3

* Гистидин определен по методу Кнопа.

БЕЛКИ МОЗГА

Содержание основных аминокислот в *белках мозга овцы, крысы* и *быка* (ссылки 89, 92, 90 и неопубликованные данные)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %		
Овца	11,9	6,9	3,2	6,0	Мозжечок	♂
Овца	14,7	6,6	2,5	6,7	Мозжечок	♂
Овца	14,7	7,0	2,6	6,6	Мозжечок	♀
Овца	15,3	6,4	2,4	6,2	Мозгов. полушария	♀
Овца	13,2	6,7	2,2	5,7	Мозгов. полушария	♂
Овца	13,6		2,5	6,0	Мозгов. полушария	♂
Овца	14,4	6,5	2,5	5,7	Средний мозг	♂
Овца	14,6	6,9	2,9	6,1	Средний мозг	♂
Овца	15,0	6,7	2,8	6,4	Средний мозг	♀
Овца	14,4	6,7	2,5	6,5	Весь мозг	♀

Продолжение

Источник	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Овца	14,4	7,1	2,8	6,6	Весь мозг ♂
Крыса	14,3	6,5	2,3	5,6	Возраст 1—2 дня
Крыса	14,5	6,5	2,3	5,9	Возраст 6–9 дней
Крыса	13,1	6,8	2,1	6,7	
Крыса	14,4	6,8	1,7	6,3	
Крыса	15,5	5,7	3,1		
Крыса	15,0	6,2	3,1	6,1	Гистидин по Кнопу ♀
Крыса	14,7	6,6	2,7	6,3	Гистидин по Кнопу ♂
Бык	12,9	6,6	2,0	5,3	Гистидин в виде дифлавианата
Бык	13,6	6,4	2,9	5,8	
Бык	14,7	6,3	2,0	5,4	
Бык	14,3	6,8	2,5	6,7	♀
Бык	14,0	6,6	2,5	6,9	♂

БЕЛКИ МОЗГА

Среднее содержание основных аминокислот в *мозге человека, обезьяны, овцы, крысы, быка, собаки, морской свинки, кролика*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Человек	13,9	6,6 ± 0,2	2,6 ± 0,2	6,4 ± 0,1	Психич. здоров. 16 случаев
Человек	12,0	6,6	2,4	3,9	Болезнь Краббе 1 случай
Человек	14,1	6,1	1,5	3,1	Амавротич. идиотизм 1 случай
Обезьяна	14,4	6,6 ± 0,2	2,5 ± 0,2	6,2 ± 0,3	15 определений
Овца	14,2	6,8 ± 0,1	2,6 ± 0,2	6,2 ± 0,2	11 определений
Крыса	14,5	6,4 ± 0,3	2,5 ± 0,4	5,9 ± 0,5	7 определений
Бык	13,9	6,5 ± 0,2	2,4 ± 0,3	5,9 ± 0,6	5 определений
Свинья	15,4	6,6	2,7	6,5	2 случая
Щенята	13,4	7,0	2,6	6,1	1 случай
Морская свинка	14,8	7,1	3,0	6,4	2 случая
Кролик	12,8	6,7	2,3	6,7	2 случая

Примечания к таблицам «Белки мозга»

Суммированные выше аналитические данные получены хотя и тремя исследователями, но в одной и той же лаборатории. Поэтому они имеют скорее сравнительное, чем абсолютное значение. Только один препарат белка, выделенный в одном случае при инфантильном амавротическом идиотизме, резко отличается от остальных по аномально низкому содержанию лизина. Белки мозга здорового человека, обезьяны, овцы, крысы и быка, повидимому, мало отличаются друг от друга по содержанию основных аминокислот (кислотный гидролиз).

Высказанное ранее одним из нас [92] (Р. Д. Б.) предположение, что белки мозга приматов самцов и самок отличаются друг от друга по содержанию основных аминокислот, как показали последующие анализы, не подтвердилось.

БЕЛКИ ЯЙЦА

Содержание основных аминокислот в *кристаллическом яичном альбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Блок	Бернгарт — 73	15,3	5,5	1,8	4,8	
Коссель-Колвери	Колвери — 139	(15,5)	5,2	1,4	4,1	
Янсен-Хантер	Хантер — 313	16,0	5,2			
Паули-Кёсслер	Ханке — 288	(15,5)		2,4		
Коссель-Паттен	Осборн — 494	15,5	5,1	1,8	3,9	
Коссель-Блок	Поттингер — 527	(15,5)	6,2	2,4	3,9	
Коссель-Блок	Тристрам — 619		6,1	1,6	5,1	исправлено 0,08% оксилизина
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639					
Коссель-Викери	Викери — 651	15,8	5,7	1,5	5,0	
Коссель-Викери	Викери — 656	15,5	5,8			прямое определение
Коссель-Чибнэл	Чибнэл — 160	15,8	5,7	1,5	5,1	
Сакагучи	Сакагучи — 563		6,3			
„Наиболее правильные данные“		15,5	5,8	2,0	5,0	
Среднее и 2 × S. E.			5,7 ± ± 0,3	1,8 ± ± 0,3	4,5 ± ± 0,5	

БЕЛКИ ЯЙЦА

Содержание основных аминокислот в *белках яйца* (кроме кристаллического альбумина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Кональбумин	Коссель-Блок	Блок — 83	15,0	6,4 *	3,0	8,0 *
Кональбумин	Коссель-Паттен	Осборн — 507	(16,1)	5,1	2,2 *	6,4
Глобулин	Коссель-Блок	Блок — 83	14,4	6,6	1,6	5,7
Глобулин	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(15,0)	4,4		
Вителин	Коссель-Колвери	Колвери — 140	15,0	8,4 *	1,3	5,8 *
Вителин	Ван-Сляйк	Колвери — 140	15,0	8,6	1,0	9,3
Вителин	Коссель-Паттен	Осборн — 495	16,3	7,3	1,9 *	4,7
Вителин	Сакагучи	Сакагучи — 563	16,0	7,5		
Ливитин	Коссель-Викери	Джюкс — 347	14,8	5,1	1,2 *	5,0
Ливитин	Коссель-Викери	Джюкс — 348	15,5	5,8 *	1,0	5,2 *
Белок яйца	Коссель-Блок	Блок — 83	14,8	5,7		6,1
Белок яйца	Коссель-Колвери	Колвери — 141	(15,0)	5,8 *	2,2 *	6,5 *
Желток яйца	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,6	7,2	2,6 *	5,0
Желток яйца	Коссель-Колвери	Колвери — 141	(15,0)	8,2 *	1,4	5,5 *
Целое яйцо	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,1	7,0	2,4	6,0

* „Наиболее правильные данные".

Примечания к таблицам „Белки яйца"

Кристаллический яичный альбумин и белок яйца. Состав кристаллического овальбумина — основного протеина яичного белка — установлен с большой степенью точности. Насколько авторам известно, до сих пор не было проведено сравнительного исследования содержания основных аминокислот в кристаллических альбуминах куриного яйца и яйцах других животных. Белок яйца содержит, повидимому, больше лизина, чем кристаллический альбумин. Однако это различие вызвано, вероятно, техническими причинами и не имеет большого значения.

Протеины желтка. Эти протеины, повидимому, богаче аргинином, чем протеин яичного белка.

ПИЩЕВЫЕ ВЕЩЕСТВА

Содержание основных аминокислот в *кормах* и *пищевых продуктах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Хлеб	Коссель-Блок	Не опубликовано	11,2	3,5	2,3	2,8	молоко дрожжи
Мука	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,5	3,9	2,2	1,9	
Злаки *	Коссель-Блок	Не опубликовано		5,0	1,7	3,0	„Wheatena"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано		5,4	2,7	3,4	„Ralston"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,5	3,3	1,8	1,8	„Cream Farina"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,6	3,0	1,6	1,6	„Cream of wheat"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,8	5,2	3,1	1,3	„New cream of wheat"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано		2,2	2,2	0,9	„Puffed, sparkies"
Злаки	Коссель-Блок	Не опубликовано		2,3	1,2	1,4	Cerevim
Глютин кукурузы, мука	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,4	3,2	1,9	2,0	
Льняная мука (высуш. льняное семя)	Коссель-Блок	Не опубликовано		6,2	1,5	2,5	
Мука люцерны	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,6	4,3	2,1	4,2	
Соевая мука	Коссель-Блок	Не опубликовано		5,8	2,3	5,4	
Льняная мука (натур. льняное семя)	Коссель-Блок	Не опубликовано		6,9	1,9	1,0	
Соевая мука?		Генрих — 286	?	11,8	3,8	4,4	
Мука из лупина?		Генрих — 286	?	12,6	2,9	3,1	
Мясные отходы	Коссель-Блок	Не опубликовано		7,0	2,0	5,1	

* Cereal.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Кровяная мука	Коссель-Эйри	Эйри — 38	12,6			6,7	
Кровяная мука	Коссель-Эйри	Эйри — 38	14,5			7,7	
Кровяная мука	Коссель-Блок	Эйри — 38	13,7			6,2	
Мясные отходы	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,6	5,5	2,7	6,0	
Stick water	Коссель-Блок	Не опубликовано	11,8	5,4	2,6	4,1	рыба

Примечания к таблице „Пищевые вещества"

Пищевые вещества. За исключением белка сои, пищевые вещества растительного происхождения содержат значительно меньше лизина, чем белки животного происхождения.

Хлеб. Применение молока и дрожжей при приготовлении хлеба значительно повышает содержание в нем лизина, а вместе с тем и его питательную ценность по сравнению с мукой.

ГОРМОНЫ, ЭНЗИМЫ

Содержание основных аминокислот в *гормонах и энзимах, не содержащих металла*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Инсулин	Ван-Сляйк	Енсен — 318	16,0	3,3	4,5	2,3	
Инсулин	Ван-Сляйк	Енсен — 320	(16,0)	3	8	2	
Инсулин	Сакагучи	Томас — 607	15,7	3,4 *			
Инсулин	Коссель-Блок	Чибнэл — 160	15,5	3,2		1,3 *	
Пепсин	Коссель-Колвери	Колвери — 146	15,4	1,4	следы	1,8	
Пепсин	Коссель-Колвери	Колвери — 146	15,2	1,2	„	2,1	осажд. при нагревании

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Пепсин	Коссель-Колвери (?)	Колвери — 146	15,4	1,8	следы	1,7	горячее фильтр.
Пепсин	Сакагучи	Бранд — 127	(15,4)	1,0			свинья
Тирео-глобулин	Ван-Сляйк	Каветт — 152		7,4	1,8	5,8	норм. человек
Тирео-глобулин	Ван-Сляйк	Каветт — 152		7,4	1,8	5,4	коллоид зоб
Тирео-глобулин	Ван-Сляйк	Каветт — 152		7,4	1,7	5,6	adeno-matoses
Тирео-глобулин	Ван-Сляйк	Экштейн — 202	15,6	8,2 *	6,9	3,9	аргинин по Косселю
Тирео-глобулин	Коссель-Паттен	Кох — 373		5,8	3,1		
Рибо-нуклеаза	Сакагучи	Бранд — 127	(16,0)	5,2			
Желтый фермент	Сакагучи-Кноп	Кун — 393	16,3	8,1	2,8	13,6	лизин по азоту
Трипсин	Сакагучи	Бранд — 127	16,0	3,3			
Трипси-ноген	Сакагучи	Бранд — 127	(16,0)	1,6			
Химотрип-синоген	Сакагучи	Бранд — 127	(16,2)	2,8			
Молочный гормон гипофиза	Сакагучи-Томас	Ли — 419	(16,0)	8,3			
Окситотич. гормон задн. доли гипофиза	Сакагучи-Дюмазер	Поттс — 528	(16,0)	<0,8			
Прессорн. гормон задн. доли гипофиза	Сакагучи-Дюмазер	Поттс — 528	(16,0)	12,3			
Гонадо-тропин	Ван-Сляйк	Эванс — 214		1,0	1,9	7,4	сывор. берем. кобылы
Секретин	Сакагучи-Паули	Агрен — 25	14,4	7,3	4,4	9,9	лизин по Ван-Сляйку
Тирео-глобулин	Ван-Сляйк	Каветт — 152		7,4	1,7	4,7	Базедова болезнь

* „Наиболее правильные данные“.

Примечания к таблице „Гормоны и энзимы"

Пепсин. В соответствии с тем, что пепсин активен в сильно кислой среде, он содержит мало основных аминокислот. Данные таблицы еще раз подтверждают, что состав анализируемого белка может немного меняться в процессе его получения. Препараты пепсина, полученные путем денатурации, нагреванием и путем коагуляции, отличаются от нативного пепсина.

Тиреоглобулин. Имеющиеся в литературе данные о содержании основных аминокислот и в особенности гистидина в тиреоглобулине настолько отличаются друг от друга, что трудно высказать какие-либо предположения даже о приблизительном составе этих белков.

Гормоны гипофиза. Установленное отсутствие аргинина в окситотическом гормоне и относительно высокое содержание его в прессорном гормоне является лишним примером «необычного» состава большинства физиологически активных протеинов и полипептидов по сравнению с более «инертными» белками тканей.

КЕРАТИНЫ

Содержание основных аминокислот в *коже и нейрокератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Человнк (кожа)	Коссель-Викери	Блок — 79	15,5*	6,2	0,9*	4,4*
Человек (кожа)	Ван-Сляйк	Экштейн — 203	14,2	6,7	0,7	5,3
Человек (кожа)	Коссель-Блок	Уилькерсон — 678	15,1	10,6*	0,6	3,3
Ягненок (кожа)	Коссель-Блок	Селливан — 601	(16,0)	15,0	0,7	3,5
Змея (кожа)	Коссель-Викери	Блок — 77	17,1	5,7	0,5	1,3
Змея (кожа, трипсин)	Коссель-Блок	Блок — 97	15,2	6,3	0,8	2,6
Змея (кожа)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,2	6,7*	1,0*	3,7*
Морская черепаха (панцырь)	Коссель-Блок	Блок — 96	14,1	6,4	1,7	2,0
Пеликан (головной нарост)	Коссель-Блок	Блок — 96	14,0	6,9	1,4	4,0
Кит (китовый ус)	Коссель-Блок	Блок — 96	14,1	7,0	1,6	4,3

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Лошадь	Коссель-Блок	Блок — 93	14,1	6,4	1,9	4,7
Тарпон [a] (чешуя)	Коссель-Блок	Не опубликовано	16,3	9,4*	2,0	4,6
Нейрокератин	Коссель-Викери	Блок — 78	14,1	3,9*	2,0	3,6
Нейрокератин	Коссель-Кучер	Арджирис — 32	14,2*	2,6	0,9	3,1

[a] Tarpon atlanticus order Isosponduli.

КЕРАТИНЫ

Содержание основных аминокислот в *эукератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Волос человека	Коссель-Викери	Викери — 647	(16,0)	8,0	0,5	2,5
Волос человека [a]	Коссель-Викери	Викери — 656	16,9*	8,9*		
Волос человека	Коссель-Блок	Блок — 97	15,4	8,3	1,0*	2,6*
Шерсть	Коссель-Викери	Викери — 648	16,6	8,3	9,6	2,2
Шерсть [a]	Коссель-Викери	Викери — 656	16,6	10,0		
Шерсть	Коссель-Блок	Блок — 97	15,4	9,4	0,7	2,8*
Шерсть	Янсен-Граф	Граф — 263		9,9		
Шерсть [б]	Коссель-Блок	Гордон — 261		10,1*	0,7*	2,6
Шерсть	Коссель-Блок	Салливан — 601	(16,0)	9,6	0,7	2,7
Шерсть	Коссель-Блок	Резерфорд — 561	(16,8)			3,1
Шерсть	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639		0,10% оксилизина		
Шерсть верблюда	Коссель-Блок	Блок — 97	15,1	9,6	1,0	3,2
Шерсть шимпанзе	Коссель-Блок	Блок — 109	16,7	7,8	0,6	1,9
Шерсть собаки	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		7,6	2,1	4,5
Щетина борова	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,1	8,7	1,1	2,6
Шерсть козья	Коссель-Блок	Блок — 97	16,2	8,6	1,1	3,7
Шерсть коровы	Коссель-Блок	Блок — 109	15,5	7,7	0,7	2,1
Рога крупного скота	Коссель-Блок	Блок — 80	15,1	10,4	0,7	3,2

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Рога крупного скота	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(16,0)	(4,7)		
Рога крупного скота	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,8	7,4	1,1	2,6
Ногти человека	Коссель-Блок	Блок — 80	14,9	10,0*	0,5	2,8
Рог носорога	Коссель-Блок	Блок — 97	15,6	8,5	0,7	2,8
Ногти человека	Коссель-Блок	Гесс — 292	(14,9)	7,1	0,5*	2,8*
Иглы дикобраза	Коссель-Блок	Блок — 91	15,8	8,1	0,6	2,6
Иглы ехидны	Коссель-Блок	Блок — 91	15,2	7,4	0,6	1,9
Гусиные перья	Коссель-Викери	Блок — 97	15,5	5,2	0,4	1,1
Куриные перья	Коссель-Блок	Блок — 97	15,5	6,5	0,7	1,8
Яичная скорлупа	Коссель-Колвери	Колвери — 141	(15,0)	7,8	0,6	2,2
Яичная скорлупа	Коссель-Колвери	Колвери — 142	16,6	8,6*	0,8*	3,5*
Среднее и 2 × S. E.				8,4 ± ± 0,2	0,79 ± ± 0,15	2,6 ± ± 0,3

* „Наиболее правильные данные".

[а] Прямое определение.

[б] Аргинин прямым определением.

КЕРАТИНЫ

Содержание основных аминокислот в *Gorgonia, яйцевых оболочках, фиброине шелка и т. д.*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Акула[а] (Scyllium)	Коссель-Кучер	Прегль — 529	15,1	3,4	1,8	3,9
Лосось[а]	Коссель-Блок	Юнг — 694	15,3	6,1	1,4	3,7
Сельдь[а]	Коссель-Кучер	Штейдель — 593	14,2	7,1	2,4	6,3
Bombix[а] mori	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,4	5,1	1,8	4,1

[а] Яйцевые оболочки.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Питон [а]	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,1	5,8		1,4
Коралл (Gorgonia)	Коссель-Викери	Блок — 77	15,6 *	7,5 *	0,5	2,8
Коралл (Gorgonia)	Коссель-Блок	Блок — 96	14,1	5,9	1,4 *	4,5 *
Коралл (Plexaurella)	Коссель-Викери	Блок — 77	15,6 *	6,9	0,4	3,1
Коралл (Plexaurella)	Коссель-Блок	Блок — 96	13,8	6,5	1 8 *	3,8 *
Спонгин	Коссель-Блок	Блок — 96	13,0	6,2 *	обнаружено	4,3 *
Спонгин	Ван-Сляйк	Клапси — 163		5,6	0,0	3,7
Фиброин шелка	Коссель-Викери	Викери — 650	19,0 *	0,6	0,06	0,2
Фиброин шелка	Коссель-Кучер	Абдергальден — 20	19,0	1,3	0,6	0,7
Фиброин шелка	Коссель-Викери	Бергман — 69	19,0	0,8		
Фиброин шелка	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(19,0)	1,3		
Фиброин шелка [б]	Коссель-Викери	Викери — 656	19,0	0,6 *		

* „Наиболее правильные данные".
[а] Яйцевые оболочки.
[б] Прямым методом.

Примечания к таблицам «Кератины»

Эукератины. Поразительное постоянство молекулярных отношений — гистидин, лизин, аргинин, наблюдаемое у эукератинов (волосы, рог, иглы, перья и т. д.), вполне характеризует эту группу протеинов. Как и следовало ожидать, это соотношение трех основных аминокислот не вполне постоянно у значительной группы тканевых белков. Однако отклонения невелики по сравнению с очевидным значительным сходством.

БЕЛКИ ПЕЧЕНИ

Содержание основных аминокислот в *белках печени*

Высчитано на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Человек	Коссель-Блок	Блок — 105	13,7	5,7	3,1	6,7
Человек	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(14,0)	8,5		
Кошка [а]	Коссель, Кноп, Паули	Урбан — 625	15,0	6,1	2,4	9,6
Кошка [б]	Коссель-Блок	Блок — 87	13,9	6,7	2,2	5,9
Кошка, глобулин [а]	Коссель, Кноп, Паули	Урбан — 625	14,8	6,4	2,3	9,3
Кошка, альбумин [а]	Коссель, Кноп, Паули	Урбан — 625	15,4	5,9	3,1	10,2
Собака	Сакагучи-Томас	Томас — 607	(14,0)	6,7		
Собака	Коссель-Кучер	Уэйкман — 670		4,6 *	1,4 *	4,0 *
Бык	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,3	6,3	2,5	5,1
Бык	Коссель-Блок	Бич — 59		6,6	2,0	6,0
Осетр	Коссель-Кучер	Уэйкман — 670		3,4 *	1,1 *	3,4 *
Треска	Коссель-Блок	Не опубликовано				5,0 *
„Наиболее правильные данные“			16,0	6,5	2,4	6,3
Среднее и 2 × S. E.				6,5 ± 0,7	2,6 ± 0,3	

* Не включены при расчете средних величин.

[а] Лизин по Ван-Сляйку.

[б] Исправлено.

МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *металлсодержащих белках* (кроме гемоглобина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Ферритин	Ван-Сляйк	Кун — 396	8,4	17,7 *	0,5	4,8
Гемоцианин	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		7,8	7,8	7,2
Гемоцианин	Коссель-Блок	Мэзур — 441	17,5	5,9 *	4,2	8,2 *

* „Наиболее правильные данные“.

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Гемоцианин [a]	Сакагучи-Паули	Рош — 550	(15,6)	5,5	6,1 *	8,0
Гемэритрин [a]	Сакагучи-Паули	Рош — 550	16,8	5,4	5,1	8,5
Цитохром С [б]	Сакагучи-Паули	Теорель — 605	15,4	2,8	3,4	24,4
Цитохром С	Коссель-Кучер	Теорель — 605	15,4			15,4 *

* „Наиболее правильные данные".

[a] Лизин по NH_2—N.

[б] Лизин только по азоту.

Примечания к таблицам „Белки, содержащие металлы"

Ферритин необычайно богат аргинином и практически не содержит гистидина. Этим он отличается от гемоглобина — другого белка, содержащего Fe, который очень богат гистидином и беден аргинином.

В *гемоцианине* не так много гистидина, как в гемоглобине.

В *цитохроме С* относительно мало аргинина и гистидина, но необычайно много лизина.

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание основных аминокислот в *казеине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Электрофорез, Коссель	Альбанес — 27	13,8	3,7	3,2	5,4	лизин только по азоту
Коссель-Айри	Айри — 38	14,5			6,8	
Коссель-Блок	Бич — 55	15,1	3,8	1,7	6,6	
Коссель-Блок	Бич — 57	14,5	4,2	2,0	6,8	
Коссель-Блок	Блок — 85	16,1			7,2	
Ван-Сляйк	Блок — 85	16,1			5,2	
Коссель-Колвери	Колвери — 138		3,1	1,7	5,5	среднее из 10 определен.
Ван-Сляйк, Каветт	Каветт — 151		3,8	2,7	8,7	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Ван-Сляйк, Кавется	Кавется — 153		4,0	2,9	9,6	
Кноп-Конрад	Конрад — 168			2,6		
Коссель-Блок	Ксонка — 181	16,0	3,8	2,5	7,6	гистидин по методу Кнопа
Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(15,4)	5,4			
Янсен-Граф	Граф — 263		4,1			
Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(15,4)		3,0		
Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(15,4)		2,7		
Коссель-Кучер	Харт — 283	15,9	4,9	2,6	5,8	
Янсен-Хантер	Хантер — 313		4,0			
Кноп	Капеллер-Адлер — 351	15,4		4,3		
Коссель-Гросс	Коссель — 384		4,5			
Сакагучи и Кноп	Кун — 393	(15,4)	3,8	1,4	9,5	лизин только по азоту
Харден-Лянг	Лянг — 399	15,4	3,4			
Ляутеншлейгер	Ляутеншлейгер — 405	(15,4)		3,7		
Либен	Либен — 420	13,6			6,8 [a]	гидролиз HI 1,825 *г*
Коссель-Кучер	Ливенуорс — 410	15,6			5,9	
Ван-Сляйк	Нарайана — 471		4,7	2,4	6,7	
Оргльмайстер	Оргльмайстер — 487	(15,4)	3,7			
Коссель-Паттен	Осборн — 494	15,6	3,9	2,6	6,1	
Ван-Сляйк	Пліммер — 521	15,2	3,9	1,6	9,9	
Коссель-Блок	Пліммер — 521	15,2	3,9	1,8	6,4	
Коссель-Блок	Пліммер — 523	14,1	3,6	1,7	5,1	
Коссель-Блок	Поттингер — 527	(15,4)	5,4	2,7	7,9	
Сакагучи	Сакагучи — 563		4,2			
Сакагучи-Томас	Томас — 607	(15,4)	3,5 — — 4,3			
Коссель-Блок	Тристрам — 619		4,2	1,9	6,6	
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 63					0,31% оксилизина
Коссель-Осборн	Ван-Сляйк — 631		4,0 [a]	2,7 [a]	7,9 [a]	

[a] Не включены при расчете средних величин.

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Викери	Викери — 654	15,5	4,1	1,9	6,5	
Коссель-Викери	Викери — 656	15,5	3,8			прямое осаждение
„Наиболее правильные данные"		15,5	4,2	2,5	7,5	
Среднее и 2 × S. E.			4,1 ± ± 0,2	2,5 ± ± 0,3	6,9 ± ± 0,7	
Коссель-Блок	Бич — 57	13,7	6,0 *	1,3	6,8 *	казеин, человек
Коссель-Блок	Пиммер — 521	14,4	4,0	1,7 *	6,1	назеин, человек
Ван-Сляйк	Пиммер — 521	14,4	3,6	1,2	7,0	казеин, человек

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание основных аминокислот в *лактальбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Блок	Бич — 57	14,2	3,9	1,6	8,9	Коровье молоко
Коссель-Блок	Не опубликовано	13,8	3,7	2,0	9,6	Коровье молоко
Коссель-Кучер	Осборн — 505	15,5	3,1	1,6	9,1	Коровье молоко
Ван-Сляйк	Осборн — 505	15,5	3,6	2,7	10,2	Коровье молоко
Ван-Сляйк	Пиммер — 521	14,2	4,5	2,3	9,1	Коровье молоко
Коссель-Блок	Пиммер — 521	14,2	4,5	2,0	7,1	Коровье молоко
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639	0,03% оксилизина				Коровье молоко
Янсен-Граф	Граф — 263		2,8			Коровье молоко
„Наиболее правильные данные"		15,5	3,9	2,0	9,6	
Коссель-Блок	Бич — 57	13,7	6,0 *	1,3	6,8	Женское молоко
Коссель-Блок	Пиммер — 521	14,6 *	5,5	1,9 *	7,2 *	Женское молоко
Коссель-Блок	Пиммер — 521	14,6	5,1	0,8	10,7	Женское молоко

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание основных аминокислот в β-*лактоглобулине, цельном молоке и гидролизатах казеина*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
β-лакто-глобулин	Коссель-Блок	Боллинг — 112	15,5 *	3,5 *	1,8 *	10,2	
β-лакто-глобулин	Сакагучи-Вебер	Бранд — 128	15,6	2,9			
β-лакто-глобулин	Коссель-Блок	Кеннен — 147	15,5	2,9	2,4	10,9 *	
β-лакто-глобулин	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк—639	16,0	0,02% окси-лизина			
Казеин	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,2	6,0	3,2	8,0	Borden
Гидролизаты	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,3	6,0	3,6	8,0	Borden
Гидролизаты	Коссель-Блок	Не опубликовано	7,4	4,1	2,8	7,7	Difco
Гидролизаты	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,5	4,4	3,2	9,1	Difco
Цельное молоко	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,2	4,3	2,5	7,5	коровье
Цельное молоко	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,2	5,0	2,7	7,2	женское

* „Наиболее правильные данные".

Примечания к таблицам „Белки молока"

Казеин. Несмотря на то, что казеин, вероятно, не представляет однородного белка, он исследовался чаще всех других. Казеины молока, женского и коровьего, повидимому, отличаются друг от друга по составу.

Лактальбумин и белки сыворотки молока (коровы) содержат больше лизина и, повидимому, меньше гистидина, чем казеин. Наиболее гомогенный из всех белков, выделенных до настоящего времени из молока, β-лактоглобулин, был недавно очень тщательно проанализирован на содержание основных аминокислот. Он содержит значительно больше лизина, но меньше гистидина, чем казеин.

Белки цельного женского молока содержат значительно больше аргинина, чем белки коровьего молока.

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание основных аминокислот в *белках мышц животных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Мышцы быка	Коссель-Блок	Бич — 59		6,9	2,3	8,1
Мышцы быка	Коссель-Блок	Не опубликовано	16,1	7,1	2,2	8,0
Мышцы быка	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(16,0)	5,7		
Мышцы быка	Коссель-Паттен	Осборн — 498	16,2	7,4	1,7	7,5
Мышцы быка	Коссель-Блок	Поттингер — 527	(16,0)	7,5	1,8	7,6
Мышцы быка	Коссель-Викери	Рис — 542	15,9	6,3	0,6	7,3
Мышцы теленка	Коссель-Блок	Бич — 59		7,5	2,4	9,6
Мышцы ягненка	Коссель-Блок	Бич — 59		7,6	2,4	8,7
Мышцы свиньи	Коссель-Блок	Бич — 59		6,6	2,2	8,7
Крыса нормальн.	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 548	15,8	9,5	3,4	9,9
Белок крысы голодающей	Ван-Сляйк-Паули	Рош — 548	16 3	8,9	3,3	5,6
Миозин кролика	Коссель-Блок	Шарп — 575	16,8	6,7	1,6	9,4
Миоген кролика	Коссель-Блок	Шарп — 575	(16,0)	6,0	2,8	7,7
Мышцы кролика		Кандату — 349	(16,0)	6,9	1,1	9,6
Цыпленок светлый	Коссель-Блок	Бич — 59		6,9	2,3	8,4
Цыпленок темный	Коссель-Блок	Бич — 59		7,1	2,3	8,4
Морская черепаха	Коссель-Блок	Бич — 59		6,7	2,3	7,7
Среднее и 2 × S. E.				7,1 ± ± 0,5	2,2 ± ± 0,4	8,1 ± ± 0,6

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание основных аминокислот в *белках ракообразных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Моллюск двустворчатый	Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,3	1,5	5,4
Краб	Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	7,6	1,5	6,4
Устрица	Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,7	1,8	5,2
Гребешек	Коссель-Паттен	Осборн — 496	17,1	6,9	1,9	5,4
Креветка	Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,7	1,8	5,2
Креветка	Коссель-Блок	Бич — 59		6,6	1,8	8,3
„Наиболее правильные данные“			16,0	6,5	1,8	8,0
Среднее и 2 × S. E.				6,2 ± ±0,9	1,7 ± ±0,2	5,5 ± ±0,5

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание основных аминокислот в *белках мышц рыб*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Блок	Абдергальден 24	13,6	8,0	5,6	9,4	Треска
Коссель-Блок	Поттингер 527	(16,0)	5,6	1,7	6,8	Треска
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,8	1,4	6,8	Micropogon undulatus (из окунеобразн.)
Коссель-Паттен	Осборн — 493	(16,0)	6,3	2,6	7,5	Палтус
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	6,0	1,7	6,2	Палтус
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,7	1,2	6,4	Пикша
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,1	1,6	7,0	Сельдь
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,7	1,4	7,2	Crestivomer
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,8	1,9	7,1	Скумбрия
Коссель-Блок	Не опубликовано	11,6	5,9	2,4	5,7	Мука из сельди менхеден
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,8	1,6	6,7	Кефаль
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,6	1,2	6,8	Сардина
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	6,2	1,6	6,7	Lutianus campechinus (из окунеобразн.)
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,4	1,5	6,2	Лосось

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Блок	Бич — 59		6,4	2,3	9,0	Лосось
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	4,5	1,1	6,5	Сельдь Шэд
Коссель-Блок	Поттингер—527	(16,0)	5,9	1,4	6,8	Лосось проходной
„Наиболее правильные данные"		16,0	6,0	2,0	8,0	
Среднее и 2 × S. E.			5,6 ± ±1,0	1,9 ± ±0,6	6,7 ± ±0,4	

Примечания к таблицам „Белки мышц"

Заслуживает внимания относительное постоянство содержания основных аминокислот во всех типах мышц животных, рыб и ракообразных.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *автотрофных организмах* (*водоросли, папоротники и т. д.*)

Высчитано на 16,0% азота

Организм	Метод	Ссылка	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Phormidium	Коссель-Блок	Мэзур — 442	4,6	3,8	0,0	Водоросли
Ulva	Коссель-Блок	Мэзур — 442	3,7	0,7	0,0	Водоросли
Laminaria	Коссель-Блок	Мэзур — 442	8,0	0,9	0,0	Водоросли
Sargassum	Коссель-Блок	Мэзур — 442	4,0	1,9	4,5	Водоросли
Gloeotrichia	Коссель	Мэзур — 443	1,3	0,9	1,7	Водоросли
Macrocystis	Коссель	Мэзур — 443	4,4	0,9	1,6	Водоросли
Lessoniopsis	Коссель	Мэзур — 443	1,6	0,7	6,5	Водоросли
Fucus *	Коссель	Мэзур — 443	0,0	0,6	6,1	Водоросли
Cystoseira *	Коссель	Мэзур — 443	0,0	2,5	3,5	Водоросли
Egregia *	Коссель	Мэзур — 443	0,0	2,4	0,3	Водоросли
Caulerpa	Коссель	Мэзур — 443	3,0	1,8	0,0	Водоросли
Codium	Коссель	Мэзур — 443	3,6	2,7	4,5	Водоросли
Chondrus	Коссель-Блок	Мэзур — 442	5,1	1,1	3,4	Ирландский мох
Osmunda	Коссель-Блок	Мэзур — 442	3,8	2,2	3,0	Папоротник
Diatoms	Коссель	Мэзур — 443	0,9	5,0	3,7	
Pteridium	Коссель-Блок	Лагг — 433 А	7,6 **	1,4 **	5,4 **	Папоротник

* Единственные известные белки тканей, которые не содержат аргинина (sic).

** „Наиболее правильные данные".

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках кукурузы (Zea Mays), кроме зеина*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	Окраска
Кукуруза	Коссель-Блок	Не опубликовано		4,8	2,5	2,9	желтая
Кукуруза	Коссель-Блок	Ксонка — 181	1,78	2,0	1,0	1,0	желтая
Кукуруза	Коссель-Блок	Не опубликовано		3,1	2,2	2,1	белая
Кукуруза	Коссель-Блок	Ксонка — 181	1,71	1,9	0,8	1,0	белая
Глютин	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,7	3,1	1,6	0,8	желтая
Глютин, мука	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,4	3,2	1,9	2,0	желтая
Глютин	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,9	3,0	1,6	1,5	белая
Зародыш	Коссель-Блок	Не опубликовано	12,8	8,1	2,9	5,8	желтая
Зародыш	Коссель-Блок	Не опубликовано	11,8	5,5	2,4	4,2	белая
Зеин [a], остатки	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,9	2,9	1,6	1,6	желтая
Отруби	Коссель-Блок	Не опубликовано			3,4		желтая
Альбумины	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,8	5,4	6,7	1,2	„Steep water"
Альбумины	Коссель-Паттен	Осборн — 490	(16,0)	7,1	3,0	2,9	растворим в NaOH
Глютелин	Коссель-Паттен	Осборн — 494	(17,0)	6,7	2,8	2,8	

[a] Остатки после выделения зеина (Zein residue)

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *эдестине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель, электрофорез	Альбанес — 27	17,3	13,1	2,5	1,7	лизин только по азоту
Коссель-Блок	Бич — 55	17,1	13,6	1,4	1,7	
Коссель-Колвери	Колвери — 138		12,8	3,1	3,0	
Коссель-Блок	Гордон — 261		14,0	2,0	2,0	аргинин, прямое опред.
Паули-Кёсслер	Ханке — 278	(17,1)		2,8		
Янсен-Хантер	Хантер — 313		13,3			
Коссель-Паули	Кизель — 363	18,4	13,3	3,5	3,5	
Коссель-Паули	Кизель — 363	18,4	13,3	4,5	3,6	коагуляция нагреван.
Коссель-Паттен	Коссель — 380	(18,4)	12,5	1,8	1,5	
Коссель-Гросс	Коссель — 384		12,4			
Коссель-Паттен	Осборн — 494	18,4	12,5	2,1	1,5	
Сакагучи	Сакагучи — 563		13,4			
Коссель-Викери	Викери — 656	18,7	14,3			прямое определение
Сакагучи	Томас — 607	18,4	16,1			
Коссель-Блок	Тристрам — 619		13,4	1,8	2,2	
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		13,5	3,4	3,3	
Коссель-Викери	Викери — 643	18,4	13,8	1,8	1,9	
Коссель-Викери	Викери — 659	(18,4)		2,3		
Коссель-Чибнэл	Чибнэл — 160	18,7	14,3	2,1	2,0	
„Наиболее правильные данные"		18,7	14,3	2,3	2,0	
Среднее и 2 × S. E.			13,5 ± ±0,4	2,3 ± ±0,5	2,4 ± ±0,5	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *глиадине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Коссель-Кучер	Абдергальден — 7	(17,7)	3,1	1,5	0,0	
Ван-Сляйк	Каветт — 153		2,3	0,9	1,3	
Янсен-Граф	Граф — 263		2,7			

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Паули-Кёсслер	Ханке — 280	(17,7)		1,9		
Янсен-Хантер	Хантер — 313		2,4			
Коссель-Кучер	Коссель — 379	(17,7)	2,5	1,1	0,0	
Коссель-Паттен	Осборн — 489	(17,7)	2,9	0,5	0,0	
Либен-Лу	Либен — 420	(17,7)			1,2	
Сакагучи	Сакагучи — 563		2,5			
Коссель-Кучер	Осборн — 505	17,5	2,5	1,4	0,6	
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 630		2,8	3,1	?	
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639	0,11% оксилизина				
Коссель-Викери	Викери — 656	17,7	2,3			
Ван-Сляйк	Осборн — 505	17,5	2,7	2,0	1,1	прямое определение
„Наиболее правильные данные"		17,7	2,7	1,9	?	
Среднее и 2 × S. E.			2,6 ± ± 0,2	1,6 ± ± 0,5	0,5	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках листьев*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Люцерна	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,6	4,3	2,1	4,2
Клевер красный	Коссель-Блок	Миллер — 451		6,2	1,4	3,7
Клевер красный	Коссель-Блок	Тристрам — 619		7,4	1,4	5,5
Клевер белый	Коссель-Блок	Тристрам — 619		7,7	0,9	5,6
Шпинат	Коссель-Блок	Тристрам — 619		7,0	1,3	5,2
Ботва свеклы	Коссель-Блок	Тристрам — 619		6,5	1,4	5,7
Листья кукурузы	Коссель-Блок	Тристрам — 619		7,2	1,2	5,1
„Наиболее правильные данные"				7,0	2,1	5,4
Среднее и 2 × S. E.				6,6 ± ± 1,0	1,4 ± ± 0,3	5,0 ± ± 0,4

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *травах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Ежа сборная	Коссель-Викери	Миллер — 451	6,4	0,9	4,1
Ежа сборная	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,1	1,3	
Ежа сборная	Ван-Сляйк	Миллер — 451	6,8	4,2	6,8
Ежа сборная	Коссель-Блок	Тристрам — 619	7,7	1,5	5,3
Рожь многолетняя	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,3	1,6	4,5
Рожь многолетняя	Коссель-Блок	Тристрам — 619	7,2	1,4	5,2
Плевел многоцветный	Коссель-Блок	Тристрам — 619	6,7	1,4	5,0
Трава луговая	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,5	1,1	4,5
Трава луговая	Коссель-Блок	Тристрам — 619	8,2	1,4	4,7
Овсяница	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,0	1,4	4,5
Овсяница	Коссель-Блок	Тристрам — 619	7,3	1,2	4,8
Тимофеевка	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,1	1,4	3,8
Трава осенняя	Коссель-Блок	Миллер — 451	6,5	1,1	4,5
Гребенник	Коссель-Блок	Тристрам — 619	7,5	1,5	4,9
Люцерна	Коссель-Блок	Тристрам — 619	7,5	1,4	5,9
„Наиболее правильные данные"			7,3	1,6	5,0
Среднее и 2 × S. E.			6,9 ± ± 0,4	1,5 ± ± 0,4	4,9 ± ± 0,5

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках пшеницы* (кроме глиадина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Пшеница	Коссель-Блок	Не опубликовано		3,8 *	2,1 *	2,7*	„яровая мягкая"
Пшеница	Коссель-Блок	Ксонка — 179		2,5	1,4	(7,3)	твердая Marquis
Пшеница	Коссель-Блок	Ксонка — 179		2,3	0,7	(7,6)	твердая Tenmarq
Пшеница	Коссель-Блок	Ксонка — 179		2,4	0,5	(6,0)	мягкая Fulhio

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Глютин	Коссель-Блок	Не опубликовано	13,5	3,9*	2,2*	1,9*	5 образц.
Глютин	Коссель-Айри	Айри — 38	12,6			1,3	
Глютин	Коссель-Айри	Падоа — 508		1,9	1,0	1,2	
Мука	Коссель-Блок	Ксонка — 180	3,02	2,2	1,0	(5,2)	твердая Marquis
Мука	Коссель-Блок	Ксонка — 180	2,13	2,5	0,8	(6,5)	твердая Tenmarq
Глютелин	Коссель-Паттен	Осборн — 489	17,5	4,3	1,6	1,7	
Глютелин	Ван-Сляйк	Ксонка — 175	17,1	5,8	3,5	2,8	
Зародыш	Коссель-Блок	Не опубликовано		6,0*	2,5*	5,5*	
Зародыш	Коссель-Паттен	Осборн — 489	16,8	5,6	2,7	2,7	лейкозин
Отруби	Коссель-Блок	Ксонка — 180	2,75	1,9	0,3	(10,8)	Tenmarq
Высевки	Коссель-Блок	Ксонка — 180	3,22	3,4	0,3	(9,9)	Tenmarq

* „Наиболее правильные данные".

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в биологически активных веществах — *вирусах* и *аллергенах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Вирус	Сакагучи и Кноп	Росс — 556	16,0	9,0	0,0	—	Табачная мозаика
Вирус	Коссель-Викери	Росс — 557	15,9*	10,1*	0,0	0,0	Табачная мозаика
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	9,2	0,0	—	Табачная мозаика
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	10,0	0,0	—	Yellow aucuba

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Вирус	Коссель-Блок	Найт — 371	(16,0)	9,2	0,6	—	Green aucuba
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	9,0	0,0	—	Holmes' ribgras
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	9,2	0,0		Holmes masked
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	8,7	0,0		J14 D1
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	8,8	0,0		Cucumber 1
Вирус	Коссель-Паули	Найт — 371	(16,0)	10,0	0,0		Cucumber 3
Аллерген	Коссель-Викери	Спайс — 585	19,8	27,3	следы	3,1	Хлопковое семя
Аллерген	Коссель-Викери	Спайс — 585	20,2	26,3	следы	1,3	Хлопковое семя
Аллерген	Коссель-Викери	Спайс — 585	11,6	40,7	0,0	2,8	Хлопковое семя
Липопротеин		Боллс — 48	17,4	21,5			

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках различных растений*

Высчитано на 16,0% азота

Растение	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Хлопковое семя	Коссель-Паттен	Осборн — 494	18,6 *	11,6	3,0	2,0	глобулин
Хлопковое семя	Ван-Сляйк	Каветт — 153		12,2	2,3	5,0	глобулин
Хлопковое семя	Коссель-Блок	Фонтэн — 238	17,9	12,2	3,0	5,2 *	глобулин
Хлопковое семя	Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639		0,21% оксилизина			глобулин
Хлопковое семя	Коссель-Викери	Викери — 656	18,6	12,8 *			глобулин

* „Наиболее правильные данные“.

Продолжение

Растение	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Хлопковое семя	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,9	7,4	2,6	2,7	мука
Клещевина боб	Коссель-Блок	Тристрам — 619		6,4	1,3	5,5	
Льняное семя	Коссель-Блок	Не опубликовано		6,2	1,5	2,5	мука
Земляной орех	Ван-Сляйк, Каветт	Браун — 134	18,0	11,1	1,9	4,0	арахин
Земляной орех	Ван-Сляйк, Каветт	Браун — 134	18,0	12,7	1,9	6,0	конарахин
Земляной орех	Коссель-Айри	Айри — 38	7,6			2,8	жмых
Земляной орех	Коссель-Блок	Не опубликовано	10,4	9,9	2,1	3,0	мука
Земляной орех	Коссель-Гросс	Коссель — 384		15,4			арахин
Земляной орех	Коссель-Кучер	Джонс — 322	18,3 *	11,0	1,9 *	1,5	арахин
Земляной орех	Ван-Сляйк	Джонс — 322	18,3	11,9	1,6	4,4	арахин
Земляной орех	Коссель-Викери	Викери — 656	18,3	12,2 *			арахин
Тыква, семя	Коссель-Викери	Викери — 657	18,5	13,8—15,4			4 образца
Соевые бобы	Коссель-Блок	Не опубликовано		5,8	2,3	5,4	мука
Соевые бобы	Коссель-Паули	Кизель — 362	17,5	8,5	3,3		глицинин
Phaseolus mungo (бобы)	Коссель-Кучер	Джонс — 311	16,6	5,1	1,7	4,0	глобулин
Горох	Коссель-Паттен	Осборн — 491	17,1	8,3	2,1	5,0	вициллин
Горох	Коссель-Паттен	Осборн — 492	18,0	4,9	2,0	2,7	легумелин
Каучук	Коссель-Блок	Тристрам — 620	15,0	6,5	0,6	5,3	
Гордеин	Коссель-Паттен	Осборн — 494	17,2 *	2,0	1,2	0,0	
Гордеин	Коссель-Кучер	Кляйншмидт — 369	17,2	2,9 *	0,5	0,0	
Рицин	Коссель	Каррер — 355	17,0	11,7	0,0	6,3	лизин по азоту

* „Наиболее правильные данные“.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках овса* и *риса*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Овес	Коссель-Блок	Не опубликовано		5,8	2,0	3,3	(Cereal)
Овес, цельное зерно	Коссель-Блок	Ксонка — 182		2,1	0,6	1,8	Richland
Овес, цельное зерно	Коссель-Блок	Ксонка — 182		3,7	0,9	1,3	продажный
Овес (рушеный)	Коссель-Блок	Ксонка — 182		3,9	1,3	1,1	
Овес средн. качества	Коссель-Блок	Ксонка — 182		3,8	1,2	0,6	
Овес, высевки	Коссель-Блок	Ксонка — 182		3,5	0,7	1,3	
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,3	0,8	3,4	цельное зерно
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,9	0,9	4,4	полированный
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		2,6	0,7	3,3	отруби
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		2,2	0,6	3,0	полированный
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,4	0,6	3,6	Арканзас 155
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,7	1,1	4,2	Shoemed
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		4,2	0,6	4,1	Акадия
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,9	0,9	3,9	Зенит
Рис	Коссель-Блок	Кик — 364		3,5	0,9	5,1	Фортуна
Рис	Ван-Сляйк	Осборн — 505	16,7	8,8	3,2	4,1	Oryzenin
Рис	Коссель-Блок	Не опубликовано		7,2	1,5	3,2	(Cereal)

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *белках дрожжей* и *плесеней*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Дрожжи	Коссель-Блок	Блок — 87	10,0	4,7		6,3	высшие, белок
Дрожжи	Коссель-Блок	Блок — 87	9,0	4,6		6,1	низшие, белок
Дрожжи	Коссель-Блок	Блок — 87	8,3	4,7		6,3	без крахмала
Дрожжи	Коссель-Блок	Блок — 87	8,4	5,4		6,3	$(NH_4)_2SO_4$ *
Дрожжи	Коссель-Блок	Блок — 87	8,5	5,3		6,1	аспарагин *
Дрожжи	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,4	4,3	3,0	6,4	пивные
Дрожжи	Коссель-Викери	Ксонка — 178	(8,0)	2,6		4,3	пивные
Дрожжи	Коссель-Блок	Не опубликовано		4,8	2,8	6,5	пивные
Дрожжи	Коссель-Блок	Не опубликовано		4,5	2,9	6,9	пивные
Дрожжи	Коссель-Блок	Ксонка — 178	(8,0)	2,7		5,2	хлебопекарные
Дрожжи	Коссель-Блок	Не опубликовано		4,1	2,6	6,4	хлебопекарные
Дрожжи	Коссель-Кноп	Уллей — 691			2,1		хлебопекарные
Дрожжи	Коссель-Блок	Не опубликовано		4,3	3,4	5,1	Steep water
Плесень**	Разные	Уллей — 689	5,15	1,8	0,5	2,5	aspergillus
Среднее и 2 × S. E.				4,3 ± 0,5	2,8 ± 0,3	6,0 ± 0,4	

* Среда.

** Не включено в среднее значение.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание основных аминокислот в *зеине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %	
Бразье	Бразье — 129	17,5	(0,5)	1,3	0,0	
Паули-Кёсслер	Ханке — 280	15,5		1,3		
Либен-Лу	Либен — 420				0,0	
Коссель-Кучер	Коссель — 379	(16,0)	1,8	0,8	0,0	
Коссель-Паттен	Осборн — 490	16,1	1,2	0,4	0,0	
Коссель-Паттен	Осборн — 494	16,1	1,2	0,8	0,0	
Сакагучи	Сакагучи — 563		2,0			
Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 639		0,31%	оксилизина		
Коссель-Викери	Викери — 656	16,1	1,6			прямое определение
Коссель-Викери	Викери — 655	(16,0)	1,5	0,8	0,0	
Коссель-Кучер (?)	Ливенуорс — 655	(16,0)	1,5	0,8	0,0	
„Наиболее правильные данные“		16,1	1,6	0,9	0,0	
Среднее и 2 × S. E.			1,6± ±0,2	0,9± ±0,2	0,0	

Растительные белки

Состав растительных белков может варьировать в зависимости от вида растений, климата, удобрения, почвы и т. д.

Автотрофные организмы. Белки получаются экстракцией из сухих организмов горячей 90% муравьиной кислотой. Если полученные аналитические данные справедливы, то в этом случае мы впервые встречаемся с белками, в которых совершенно отсутствует аргинин. Найденное разнообразие в содержании лизина от 0,0 до 6,5% также стоит в противоречии с результатами, получаемыми обычно при исследованиях тканевых белков всего растения или животного (см. Лагг [433А]).

Кукуруза. За исключением белков зародышей, белки кукурузы отличаются низким содержанием лизина. Альбумины кукурузы (Steep water proteins) представляют один из наиболее богатых источников гистидина.

Эдестин. Несмотря на то, что этот белок, вероятно, неоднороден, он все же неоднократно анализировался. В соответствии с большинством других глобулинов семян он характеризуется очень высоким содержанием аргинина.

Глиадин. Глиадин пшеницы — растворимый в спирте белок — содержит мало гистидина и аргинина и очень малое количество или совсем не содержит лизина. Полученные данные по лизину требуют проверки [12].

Травы. Белки трав относительно богаты аргинином и содержат почти такое же количество лизина, как и белки кукурузы, зародыша пшеницы и соевые бобы. По мнению авторов, содержание гистидина в этих белках окажется более высоким, чем указано в таблицах, если определение проводить с помощью нитраниловой, а не дифлавиановой кислоты.

Белки листьев. Эти белки сходны по составу с белками трав. В отличие от обычно используемых белков семян (например, пшеницы или кукурузы), они содержат больше лизина.

Глобулины хлопкового семени содержат большое количество лизина и гистидина и очень богаты аргинином. К сожалению, содержание глобулинов в хлопковом семени составляет только 30% от общего количества белка хлопкового семени.

Белки соевых бобов по своему составу аналогичны белкам листьев, трав и зародышей пшеницы. Количество лизина в них лишь немногим меньше, чем в белках животных.

Овес и рис. Наши предварительные исследования белков овса показывают, что содержание в них основных аминокислот, особенно лизина, выше, чем в рисе, кукурузе и пшенице. Эти данные находятся в противоречии с наблюдениями Ксонки [182] и Кика [364].

Пшеница. Ксонка [179] нашел, что цельное зерно разных видов пшеницы отличается друг от друга по аминокислотному составу. Белки пшеницы, подобно кукурузе, бедны лизином; исключение составляют белки зародышей. Установленные количества [179] лизина — 6,0 и 7,6% в цельном зерне, вероятно, ошибочны.

Вирусы и аллергены. Химический состав этих биологически активных белков и полипептидов характеризуется относительно высоким содержанием аргинина и отсутствием гистидина.

Дрожжи. Белки дрожжей отличаются относительно высоким процентом лизина, поэтому их полезно использовать для улучшения питательной ценности хлеба и аналогичных продуктов. Препараты дрожжей, выращенных на альбуминах кукурузы (Steep water proteins), отличаются от других, повидимому, более высоким содержанием гистидина и меньшим содержанием лизина. Это, вероятно, обусловливается тем, что в анализируемый препарат попадает некоторое количество альбумина кукурузы, содержащего больше гистидина и меньше лизина. Опыты показали, что микроорганизмы способны превращать биологически малоценный белок в препараты, имеющие большое питательное значение.

Зеин. Подобно глиадину, в зеине мало гистидина и аргинина. Он не содержит лизина.

БЕЛКИ ОРГАНОВ

Содержание основных аминокислот в *белках различных тканей* и *органов*

Высчитано на 16,0% азота

Орган	Метод	Ссылка	Азот, %	Аргинин, %	Гистидин, %	Лизин, %
Почки (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,6	6,3	2,0	5,2
Почки (человек)	Коссель-Блок	Блок — 105	14,2	6,3	2,7	5,5
Легкие (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,3	6,5	2,5	5,4
Легкие (бык)	Коссель-Блок	Бич — 59		6,3	1,9	5,8
Легкие (бык)	Коссель-Блок	Фюрт — 251	(16,0)	6,5		
Панкреас (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,5	6,1	2,7	5,1
Слюнные железы (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,7	6,5	2,7	5,8
Селезенка (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,7	6,3	2,1	6,1
Тимус (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,4	7,2	2,4	6,1
Яичники (корова)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,8	6,4	1,6	5,0
Семенники (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,4	6,6	2,1	6,1
Сердце (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	14,8	6,4	2,7	7,4
Сердце (бык)	Коссель-Блок	Бич — 59		7,4	2,1	7,1
Сердце (бык)	Коссель-Фюрт	Фюрт — 251	(16,0)	6,5		
Мочевой пузырь (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,9	6,5	1,5	5,0
Кишечник (бык)	Коссель-Блок	Не опубликовано	15,3	7,8	1,9	6,0
Желудок (бык)	Коссель-Блок	Бич — 59		6,6	1,7	5,8
Протамин (лосось)	Коссель-Гросс	Коссель — 384		44,2		
Протамин (осетр)	Коссель и Паули	Лисицын — 421		39,1	6,2	5,5

Глава II

АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ:

ТИРОЗИН, ТРИПТОФАН, ФЕНИЛАЛАНИН, ДИИОДТИРОЗИН И ТИРОКСИН

	Тирозин	Триптофан	Фенилаланин	Дииодтирозин	Тироксин
Эмпирическая формула . .	$C_9H_{11}O_3N$	$C_{11}H_{12}O_2N_2$	$C_9H_{11}O_2N$	$C_9H_9O_3NI_2$	$C_{15}H_{11}O_4NI_4$
Оптическая форма . . .	*l*	*l*	*l*	*l*	*l*
Молекулярный вес . .	181,09	204,11	165,09	432,91	776,82
Углерод . . .	59,64	64,67	65,41	24,97	23,17
Водород . . .	6,12	5,93	6,72	2,10	1,43
Азот	7,74	13,72	8,49	3,24	1,80
Кислород . .	26,50	15,68	19,38	11,09	8,24
Иод				58,63	65,35
Точка плавления	314—8° (испр.)	289° (испр.)	283° (испр.)	202° (неиспр.)	235—6° (испр.)

Раздел 1

ГИДРОЛИЗ

Введение. Вопрос о потерях аминокислот, происходящих во время гидролиза, кратко обсуждался в первой главе (см. Коссель и Кучер [379], Хантер и Дофинэ [313], Тристрам [619], Рош и Блян-Жан [551], Блок и Боллинг [105] и др.). Тогда как вопрос о распаде основных аминокислот относительно мало освещен, литература о деструкции тирозина и в особенности триптофана достаточно обширна. Это вызвано двумя обстоятельствами: 1) ароматические аминокислоты значительно легче определяются количественно, и 2) неустойчивость триптофана, в особенности при кислотном гидролизе, была установлена еще до его выделения Гопкинсом и Коле в 1901 г. Старая литература по этому вопросу достаточно рассмотрена Митчелл и Гамильтоном [462]. В настоящей работе будут обсуждены современные данные, касающиеся распада этих аминокислот во время гидролиза белка.

Тирозин. Проведенное Джорпсом [344] тщательное исследование метода Миллон-Фолина [233] показало, что после нагре-

вания свободного тирозина при 100° с 5 н. NaOH в течение 14—18 час. определяются 91—102% или в среднем 95,8±0,9% аминокислоты (17 определений).

Лагг [430] нашел, что чистый тирозин совершенно не разрушается при нагревании в течение 20—30 час. при 100° с 7 н. H_2SO_4, 5 н. NaOH или 5,5 н. NaOH, содержащей 5% $SnCl_2$. Но он же показал, что нагревание с 7 н. H_2SO_4 в присутствии углеводов приводит к значительному разложению аминокислоты.

На основании 38 опытов по определению тирозина, добавленного к β-лактоглобулину (белку, который, повидимому, не содержит углеводов), и 6 опытов с чистым тирозином Боллинг и Блок [112] пришли к выводу, что при гидролизе с 5 н. NaOH на масляной бане при 115—125° в течение 5 час. теряется от 11 до 17% добавленного тирозина. Основываясь на том, что тирозин определяется в среднем на 85%, авторы предлагают при гидролизе этого белка и в этих условиях вносить поправку, равную 1,18.

Триптофан. Опыты Гомера [305] и Гортнера с сотрудниками [462] показали, что триптофан разрушается минеральными кислотами при нагревании в присутствии $CuSO_4$, $Fe_2(SO_4)_3$, углеводов, жирных и ароматических альдегидов. Но в отсутствие этих минеральных солей и альдегидов триптофан очень устойчив к минеральным кислотам. Наблюдения Гомера, проведенные в 1915 г. о стабильности триптофана при нагревании с H_2SO_4 [305], были недавно подтверждены Гочкиссом [310]. Последний нашел, что при нагревании чистого триптофана с 6 н. HCl в атмосфере CO_2 в течение 24 час. разрушается только 0,7% аминокислоты [13]. Устойчивость триптофана к горячим щелочам, даже в присутствии ионов двувалентной меди и трехвалентного железа, а также альдегидов значительно больше, чем к кислотам. Гомер [305] нашел, что при нагревании технического казеина при 100° с 14% $Ba(OH)_2$ в течение 20—120 час. триптофан не разрушается. С другой стороны, Онслоу [483], Краус [388] и Гордон [261А] отмечают значительную деструкцию триптофана при нагревании с $Ba(OH)_2$, NaOH и Na_2CO_3. По Онслоу [483], количество триптофана, разрушающегося горячим баритом, уменьшается в присутствии других аминокислот.

Фолин и Чиокальто [232] утверждают, что гидролиз белков по Гомеру [303] 14% раствором барита при 100° в течение 48 час. приводит к низким и непостоянным результатам. В отличие от точки зрения Гомера [303], Крауса [388], Герцфельда, Фюрта и других (см. [462]) эти исследователи нашли, что «триптофан значительно более стоек в щелочных растворах и менее стоек в кислых, чем это принималось прежде». Авторы предлагают кипятить белок 18—20 час. на маленьком пламени с 5 н. NaOH.

На основании опытов Фолина гидролиз 5 н. NaOH теперь

является общепринятым. Однако Джорпс [344] нашел только 78—98% (среднее 82,4 ± 2,2%) добавленного к желатине триптофана при гидролизе последней в течение 20 час. при 100° с 5 н. NaOH. Уэбб и Блок [672] сравнивали гидролизующие действия 5 н. LiOH, NaOH, KOH, 20% $Ba(OH)_2$ и $Ca(OH)_2$ (суспензия) при нагревании в течение 5 час. при 125° (температура масляной бани). Для исследования они пользовались казеином, яичным альбумином, лактальбумином, желатиной и белками сыворотки. Результаты опытов по определению триптофана оказались неопределенными. Из них нельзя было сделать заключения о преимуществе той или иной щелочи. Исключением является только $Ca(OH)_2$, которая значительно хуже остальных.

Лагг [430] установил, что добавление 5% $SnCl_2$ к 5,5 н. NaOH понижает гидролитическое расщепление триптофана в присутствии относительно больших количеств углеводов. При нагревании белка (100°) с 5 н. NaOH в течение 20—30 час. по Лaггу потери достигают 6%. Если же белок гидролизовать в атмосфере азота с 5,5 н. щелочью с добавлением 5% $SnCl_2$, то распад снижается до 3%. Прибавление $SnCl_2$ требует последующего удаления олова цинком, что представляет трудоемкую операцию.

С другой стороны, Миллер и Ляйонс [454] утверждают, что при нагревании с 15% H_2SO_4, 20% HCl или 10—50% $Ba(OH)_2$ триптофан постепенно разрушается. Они считают, что количества триптофана, установленные при гидролизе белка, представляют собой разность между выделившейся и разрушенной во время гидролиза аминокислотой. Следует отметить, что Миллер и Ляйонс [454] пользовались для определения триптофана окраской, развивающейся под действием NaClO. Этот метод не является общепринятым.

Боллинг и Блок [112] нашли, что при добавлении к лактоглобулину разных количеств триптофана последний определяется полностью после гидролиза с 5 н. NaOH на масляной бане при температуре 115—125°. Триптофан определяется фенольным методом Фолина [233] и методом Миллон-Лагга [429]. Аналитические результаты были подвергнуты статистическому анализу. Однако полученные результаты нельзя распространить на другие белки, так как лактоглобулин совсем или почти совсем не содержит углеводов.

Фенилаланин. Химическое строение этой аминокислоты дает основание считать ее достаточно стойкой. Тем более неожиданными оказались наблюдения Блока, Джервиса, Боллинга и Уэбба [105]. Авторы нашли, что при гидролизе казеина, яичного альбумина, лактальбумина, желатины и белков сыворотки крови 5 н. NaOH обнаруживается больше фенилаланина, чем при гидролизе этих белков 8 н. H_2SO_4, 20% HCl, HCl —

— HCOOH и в особенности 57% HI. Некоторое преимущество щелочного гидролиза над кислотным было подтверждено Фонтэном, Олькот и Лоуи [238] и Найтом и Стэнлей [370]. Последние авторы сделали интересное наблюдение, что при относительно высоком содержании триптофана в белке (4—5%) выходы фенилаланина повышаются. Поэтому необходимо вносить поправку к найденному количеству фенилаланина. Вычитают из него величину, соответствующую количеству триптофана, которое находится в аликвотной части анализированного раствора.

Боллинг [112] подтвердила старые наблюдения, что при щелочном гидролизе (5 час.) может получаться несколько больше фенилаланина, чем при кислотном (18 час). При прибавлении 2—4% фенилаланина к лактоглобулину до начала кислотного гидролиза определяется 92—95%. Однако эти потери не имеют значения при статистических расчетах (<3,3). Если прибавить к белку 12% фенилаланина от его веса, то после гидролиза определяется только 87%. Это представляет уже значительную потерю (—8,1). С другой стороны, опыты Боллинг [113] показали, что фенилаланин при нагревании в течение 5 час. до 110—115° с 5 н. NaOH разрушается или так видоизменяется, что его нельзя определить по методу Каппеллер-Адлер. Степень деструкции растет с повышением процента фенилаланина, добавленного к гидролизуемому белку. Так, если к лактоглобулину до гидролиза добавить фенилаланин в разных количествах, то процент найденного фенилаланина будет различен: при 2% определяется около 90%, при 4% — около 80% и при 12% — около 70%. В отсутствие белка потери были значительно выше. После нагревания 4 *мг* фенилаланина в течение 5 час. с 8 *мл* 5 н. NaOH при 110—115° масляной бани было найдено только 25% фенилаланина.

Примечание. Из вышеизложенного обсуждения очевидно, что во время гидролиза может и часто должна происходить деструкция тирозина, триптофана и фенилаланина. Степень распада зависит от условий гидролиза, от силы кислоты или щелочи, времени и температуры гидролиза, присутствия кислорода или кислородных доноров и альдегидов, а также от соотношения между определяемой аминокислотой, не прогидролизованным белком и свободными аминокислотами.

Поэтому нецелесообразно устанавливать какие-либо определенные условия гидролиза или постоянный фактор поправки. Для большей степени точности рекомендуется пользоваться несколькими методами гидролиза и прибавлять разные количества определяемой аминокислоты к белку до и после гидролиза.

Для повседневной работы 5-часовой гидролиз с избытком 5 н. NaOH при 115—125° обычно дает удовлетворительные результаты для ароматических аминокислот.

Раздел 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИРОЗИНА

(Рекомендованные методы отмечены звездочкой)

В этом разделе будут обсуждаться те методы, по которым определяется только тирозин (без триптофана).

1. ОСАЖДЕНИЕ ТИРОЗИНА В ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ТОЧКЕ

Основы метода. Тот факт, что тирозин только слабо растворим в нейтральных или слабокислых водных растворах, послужил основанием для определения и идентификации этой аминокислоты. Это было использовано первыми исследователями-аналитиками белка для выделения минимальных количеств тирозина из белкового гидролизата. После гидролиза избыток кислоты удалялся и раствор аминокислоты доводился до нейтральной реакции аммиаком. Фильтрат концентрировался, и выпавший осадок сырого тирозина отфильтровывался. Маточный раствор концентрировался; при этом получалась вторая порция кристаллов. Предполагалось, что эта операция будет повторяться до тех пор, пока маточник не будет давать отрицательную Миллонову реакцию. Однако этого редко удавалось достигнуть. Сырой тирозин очищался перекристаллизацией.

Примечание. Этот метод дает минимальные выходы тирозина и требует большого количества белка. В настоящее время им пользуются редко.

2. РЕАКЦИЯ СО РТУТНЫМИ СОЛЯМИ И АЗОТИСТОЙ КИСЛОТОЙ (МИЛЛОН [456])

История вопроса. В 1849 г. М. Е. Миллон [456] показал, что при растворении ртути в равном по весу количестве азотной кислоты и добавлении 4,5 эквивалента воды получается смесь, содержащая $Hg(NO_3)_2 \cdot HNO_3$, $HgNO_2$, HNO_2, HNO_3 и т. д. При нагревании с белками эта смесь дает красный осадок, а при нагревании с кислым или щелочным гидролизатами — стойкую красную окраску. Независимо от Миллона Гофман [301] в 1853 г. нашел, что тирозин при нагревании с $HgNO_2$ в растворе азотной кислоты дает красное окрашивание. Несколько лет спустя Нассе [472] показал, что тирозин и другие фенолы в смеси с солями ртути после некоторого стояния и обработки разбавленным раствором $NaNO_2$ развивают типичную красную Миллонову окраску.

Вследствие своей чувствительности Миллонов реактив стал общепринятым для обнаружения тирозина в белках и белковых гидролизатах. Несмотря на то, что им пользовались для количе-

ственных определений фенола в производственных процессах, тем не менее только в 1919 г. Вайс [675] попытался использовать реактив Миллон-Нассе ($HgSO_4$ в $H_2SO_4 + NaNO_2$) для количественного определения тирозина в белковых гидролизатах.

А. РЕАКЦИЯ МИЛЛОН-ВАЙСА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ЦУВЕРКАЛОВЫМ [689]

Основы метода. Белок не гидролизуют, а только растворяют в разбавленной щелочи.

Метод. 10 *мг* белка растворяют в 1 *мл* 5% раствора NaOH и, если необходимо, нагревают. К этому раствору добавляют последовательно: 3 *мл* уксусной кислоты, 2 *мл* 10% раствора $HgSO_4$ в 5% H_2SO_4 и 1 каплю 0,5% раствора $NaNO_2$. Смесь осторожно нагревают на голом пламени, не доводя до кипения. Колориметрируют со стандартом тирозина [14].

Примечание. Авторы полагают, что присутствие триптофана может привести к повышенным результатам.

* Б. МЕТОД МИЛЛОН-ВАЙСА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БЕРНГАРТОМ [72]

Основы метода. Белок гидролизуют NaOH, добавляют избыток реагента $HgSO_4$ в H_2SO_4 (Гопкинс и Коле, [307]) и в фильтрате колориметрически определяют тирозин после прибавления HNO_2. Ртутный комплекс триптофана удаляют центрифугированием.

Метод. 10 *мг* белка нагревают с 0,2 *мл* 6 н. NaOH на кипящей водяной бане 4—5 час. Гидролизат охлаждают, подкисляют 0,3 *мл* 7 н. H_2SO_4 и 1,5 *мл* 15% $HgSO_4$ в 5 н. H_2SO_4. Пробирку с реакционной смесью нагревают 10 мин. в кипящей воде. Раствор охлаждают, добавляют 1 *мл* 7 н. H_2SO_4 и 1 *мл* 0,2% раствора $NaNO_2$. Раствор взбалтывают и разбавляют водой до 10 *мл*. Осадок «ртутного комплекса» триптофана центрифугируют. Производят отсчеты со светофильтром 520 μ.

Примечание. Хотя Фюрт [248] утверждал, что метод Миллона не дает абсолютных количеств тирозина в белках и годен только для получения сравнительных результатов, однако исследования авторов показали, что этим методом можно определять с достаточной степенью точности количество фенольных групп в гидролизатах хорошо очищенных препаратов белка.

В. РЕАКЦИЯ МИЛЛОНА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ФЮРТОМ И ФИШЕРОМ [250]

Реактивы. Миллонов реактив. Одну часть ртути растворяют в двух весовых частях азотной кислоты (уд. вес 1,42). Раствор разбавляют двумя объемами воды.

Метод. а) Гидролиз. 2,5 *г* белка гидролизуют 12 час. с раствором 3,5 *мл* H_2SO_4 в 22,5 *мл* воды. Гидролизат доводят до 50 *мл*.

б) Осаждение фосфорновольфрамовой кислотой. 20 *мл* аликвотной части гидролизата обрабатывают 20—40 *мл* 20% раствора

фосфорно-24-вольфрамовой кислоты. Для образования осадка смесь оставляют стоять на несколько дней и затем осадок отфильтровывают. Из фильтрата удаляют избыток фосфорновольфрамовой кислоты 5% раствором сернокислого хинина в 5% соляной 15
кислоте, а избыток хинина удаляют подщелачиванием NaOH.

в) Развитие окраски. К 10 *мл* указанного выше раствора прибавляют 2 *мл* Миллонова реактива. Для полноты развития окраски реакционную смесь оставляют стоять при комнатной температуре и затем проводят отсчет, как обычно.

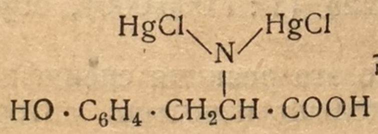
Примечание. Лейперт и Олкок [413] добавляют раствор $HgSO_4$ в серной кислоте и $NaNO_2$ непосредственно к фильтрату после осаждения фосфорновольфрамовой кислотой, без удаления избытка реагента.

3. ДИАЗОРЕАКЦИЯ (ПАУЛИ [513, 514])

Об истории вопроса и о структурной формуле см. гл. I, раздел 3.

А. ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ ПАУЛИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОЗИНА (ХАНКЕ [279])

Основы метода. Удаляют из гидролизата гистидин осаждением $Ag_2SO_4 — Ba(OH)_2$. Из фильтрата осаждают тирозин уксуснокислой ртутью и хлористым натрием. Очищенный раствор тирозина сочетают с реактивом Вайс-Соболева [674] (см. гл. I, раздел 3, [279, 281, 375]).



? Ртутный комплекс тирозина

Метод. Из сернокислого гидролизата пяти граммов белка осаждают гистидин $Ag_2O \cdot Ba(OH)_2$ по методу Коссель-Кучера (см. гл. I). Чтобы избежать потерь тирозина от окисления окисью серебра, раствор тотчас подкисляют. После удаления реагентов с помощью HCl и H_2SO_4 раствор аминокислот выпаривают досуха. Остаток растворяют в 75 *мл* воды и добавляют 1 *мл* ледяной уксусной кислоты и 3,5 *г* уксуснокислой ртути. Раствор кипятят 10 мин. с обратным холодильником и после охлаждения добавляют 7,5 *г* NaCl. После двухчасового стояния на холоду осадок ртутного комплекса тирозина центрифугируют и промывают 25 *мл* 10% раствора NaCl. Осадок разлагают горячей 20% соляной кислотой и удаляют ион ртути сероводородом. Раствор упаривают досуха, остаток растворяют в воде и в небольшой аликвотной части определяют тирозин по методу Паули-Вайса [513, 674], видоизмененному Кёсслером и Ханке [375] (см. гл. I, раздел 3 — Диазореакция).

Примечание. Количества тирозина, определенные по диазометоду, ниже тех, которые были получены в тот же период Фолином и Люней [231]. Это привело к резким дебатам по вопросу о значении реакций Паули, фенольной и Миллоновой для определения тирозина. В конечном счете Ханке [388] высказал предположение, что часть тирозина теряется при осаждении гистидина $Ag_2SO_4 — Ba(OH)_2$. Он также показал, что данные по тирозину, полученные фенольным методом Фолина, слишком высоки.

Авторы полагают, что при осаждении гистидина серебром при pH 7 или $HgCl_2$ в нейтральной или очень слабощелочной среде (Коссель [378]), а тирозина из кислой среды уксуснокислой ртутью и NaCl метод Паули-Ханке давал бы удовлетворительные результаты.

4. РЕАКЦИЯ С НИТРОЗОНАФТОЛОМ И АЗОТНОЙ КИСЛОТОЙ (ГЕРНГРОСС [256])

Основы метода. Гернгросс, Фосс и Герфельт [256] случайно заметили, что если облить кожу, на которую нанесено некоторое количество 1,2-нитрозонафтола, азотной кислотой, то появляется окрашивание.

Метод. 3 *мг* белка растворяют при нагревании в 3 *мл* разбавленной NaOH или HCl. Раствор нейтрализуют и добавляют 1 каплю 0,1% раствора 1,2-нитрозонафтола, а затем 6 или более капель концентрированной HNO_3. Раствор кипятят и колориметрируют по стандарту тирозина (1 : 1 000 000), обработанному аналогичным образом.

Примечание. Есть указания, что эта реакция специфична для *п*-алкилированных фенолов. Насколько известно авторам, эта многообещающая реакция не изучалась другими исследователями.

Раздел 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРИПТОФАНА

В этом разделе обсуждаются только те методы, которые не включают одновременно определения тирозина.

1. ВЫДЕЛЕНИЕ (ГОПКИНС И КОЛЕ [307])

Основы метода. Белок переваривают трипсином, триптофан осаждают из гидролизата 10% раствором $HgSO_4$ в H_2SO_4 и выделяют после разложения ртутного комплекса.

Реактивы. Реактив Гопкинса и Коле или Дениже. К 4,750 *мл* воды прибавляют 250 *мл* концентрированной H_2SO_4 и затем

500 г $HgSO_4$ в 10 порций по 50 г каждая до полного растворения. Небольшой осадок удаляют фильтрованием.

Примечание. Этот метод, которым пользовались авторы, открывшие триптофан, имеет не только исторический интерес. Пользуясь им, авторы выделили из казеина 1,5% триптофана. Это количество совпадает с теми, которые получены в ряде колориметрических определений или выше. Только один исследователь (Дэкин [183]) получил более высокие результаты, выделив из казеина 1,7% триптофана. В обоих случаях пользовались техническим трипсином. Гопкинс и Коле [307] употребляли на 1 *кг* казеина 400 *мл* панкреатического сока. Дэкин [183] не указывает количества взятого экстракта панкреаса. Есть основания полагать, что в течение столь длительного переваривания (7—14 дней) в значительной степени гидролизуются белки панкреаса. Выделявшийся при этом триптофан считали за триптофан казеина. Наличие в панкреасе 1,4% триптофана, может быть, является причиной того, что из «казеина» выделяют больше триптофана, чем определяют наиболее точными колориметрическими методами. Для разрешения этого противоречия Шо и Мак-Фарлен [577] гидролизовали казеин трипсином. Но после гидролиза им удалось выделить менее 1% триптофана. Эта величина лишь немногим ниже установленной колориметрически.

2. РЕАКЦИЯ С ГЛИОКСИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ (ГОПКИНС И КОЛЕ [306])

История вопроса. Блестящее доказательство Ф. Г. Гопкинсом и С. У. Коле [306] того, что существенным компонентом при проведении реакции Адамкевича является глиоксиловая кислота, содержащаяся в ледяной уксусной кислоте, не требует дальнейшего подтверждения.

А. МЕТОД ГОПКИНС-КОЛЕ, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ КЕРИ [149]

Основы метода. Триптофан осаждают раствором сернокислой ртути в серной кислоте. Осадок суспендируют в концентрированной H_2SO_4 и добавляют глиоксиловую кислоту.

Реактивы. Реактив глиоксиловой кислоты. 100 *мл* насыщенного раствора щавелевой кислоты восстанавливают 6 *г* 5% амальгамы натрия. 1 *мл* прозрачного фильтрата вливают в 20 *мл* разбавленной H_2SO_4 (21 *мл* H_2SO_4 + 5 *мл* H_2O).

Метод. Триптофан осаждают 15% раствором $HgSO_4$ в 5% (по объему) H_2SO_4. Осадок суспендируют в 20 *мл* реагента глиоксиловой кислоты. Добавляют 4 капли 25% раствора $HgSO_4$ в 10% H_2SO_4 и оставляют при комнатной температуре на 48 час. для развития окраски. Колориметрируют по стандарту.

Примечание. Эту реакцию, так же как и все другие реакции, характерные для триптофана, дают и многие производные индола.

Б. ВИДОИЗМЕНЕНИЕ БРАЙСА [132]

Метод. К 1 *мл* исследуемого раствора добавляют 1 *мл* водного раствора глиоксиловой кислоты и 3 *мл* концентрированной H_2SO_4. Последнюю надо добавлять медленно при взбалтывании. Оставляют стоять на несколько минут, охлаждают и колориметрируют. Стандартом служит триптофан.

В. МЕТОД ГОПКИНС-КОЛЕ, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ВИНКЛЕРОМ [682]

Основы метода. Прибавление небольших количеств сернокислой меди в значительной степени повышает интенсивность окраски, образующейся по методу Гопкинса при действии глиоксиловой кислоты.

Реактивы. Глиоксиловая кислота приготовляется по Бенедикту [61]. К 10 *г* порошка магния добавляют столько воды, чтобы покрыть магний. Затем прибавляют 250 *мл* холодного насыщенного раствора щавелевой кислоты. Прибавление ведут медленно, охлаждая реакционную смесь под краном. По окончании реакции осадок щавелевокислого магния отфильтровывают и промывают небольшим количеством воды. Фильтрат и промывные воды подкисляют уксусной кислотой и разводят до 1 *л*.

Метод. Растворяют 10 *мг* белка в муравьиной кислоте или щелочи NaOH и доводят до желаемого объема. К 0,1—2,5 *мл* исследуемого раствора, содержащего от 0,005 до 0,150 *мг* триптофана, прибавляют при встряхивании 0,50 *мл* раствора глиоксиловой кислоты + сернокислая медь (2 части раствора глиоксиловой кислоты по Бенедикту + 3 части 0,01 мол. раствора $CuSO_4$). Разбавляют водой до 3 *мл*, охлаждают до —10° и добавляют 5 *мл* холодной концентрированной H_2SO_4 с такой скоростью, чтобы раствор не разогревался. Оставляют стоять при комнатной температуре не менее, чем на 3—4 часа, нагревают 5 мин. в кипящей воде и определяют со светофильтром 530 μ.

Примечание. Малые количества $CuSO_4$ увеличивают чувствительность реакции с глиоксиловой кислотой от 1 : 200 000 до 1 : 1 000 000. Затруднения в выполнении реакции Гопкинс-Коле, отмечавшиеся ранее, можно объяснить присутствием следов меди в реактивах.

Г. МЕТОД ГОПКИНС-ВИНКЛЕРА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ШО И МАК-ФАРЛЕНОМ [576]

Реактивы. Глиоксиловая кислота. Обрабатывают 100 *мл* 5% водного раствора щавелевой кислоты 3,0 *мл* 1/5 н. $HgCl_2$ и несколькими кусочками алюминиевой проволоки. После появления пузырьков на алюминиевой проволоке смесь помещают на 5 мин. в кипящую водяную баню. Затем дают постоять при комнатной температуре 5 мин., фильтруют и добавляют 2,0 *мл* H_2SO_4. Хранят в холодном месте.

Метод. а) Гидролиз. Растворяют 10 *мг* белка в 10 или 20% NaOH нагреванием в растворе 5% муравьиной кислоты или гидролизуют, как обычно, 5 н. раствором NaOH или насыщенным раствором барита.

б) Развитие окраски. К 0,1—2,0 *мл* исследуемого раствора, содержащего от 0,005 до 0,150 *мг* триптофана, прибавляют 0,50 *мл* глиоксиловой кислоты и 0,50 *мл* 0,04 мол. $CuSO_4$. Разводят до 3 *мл* и тщательно охлаждают льдом. Затем добавляют из бюретки концентрированную кислоту порциями по 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 *мл*, охлаждая раствор между прибавлениями каждой порции. Оставляют на 10 мин. при комнатной температуре, нагревают 5 мин. в кипящей водяной бане, охлаждают и доводят до 10 *мл* добавлением раствора H_2SO_4 (5 : 3 по объему). Отсчеты производят в течение 15 мин., пользуясь фильтрами 540 μ и 520 μ. Каждый отсчет должен совпадать с соответствующей кривой; несовпадение указывает на присутствие посторонних мешающих реакции веществ.

Примечание. Гопкинс и Коле [306] отмечали, что перекись водорода подавляет реакцию триптофана с глиоксиловой кислотой.

3. РЕАКЦИЯ ТРИПТОФАНА С АЛЬДЕГИДАМИ (ВУАЗЕНЭ, РОД [665, 545])

История вопроса. В 1901 г. появилось сообщение Гопкинса и Коле [306] о том, что триптофан дает с глиоксиловой кислотой в присутствии H_2SO_4 цветную реакцию. Вслед за тем в 1905 г. Вуазенэ показал, что белки, индол, скатол и т. д. образуют интенсивно окрашенные растворы при обработке KNO_3, концентрированной HCl и различными жирными и ароматическими альдегидами. Вуазенэ проводил реакцию с муравьиным альдегидом, ацетальдегидом и его полимерами, хлоралем, высшими алифатическими альдегидами, включая глюкозу, бензальдегидом, салициловым альдегидом и другими ароматическими альдегидами. Вместо концентрированной HCl можно пользоваться H_2SO_4.

В том же году Род [545] сообщил о том, что белки окрашиваются в красный цвет при обработке 5% раствором *п*-диметиламинобензальдегида в 10% H_2SO_4 и добавлении концентрированной HCl. Вместо реактива Эрлиха можно также пользоваться и другими ароматическими альдегидами, как, например, ванилином (*м*-метокси, *п*-оксибензальдегидом) и *п*-нитробензальдегидом. Для определения триптофана в белках и индолов в биологическом материале большое число исследователей пользовались реакцией Вуазенэ-Рода.

А. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ТОМАСОМ [608]

Основы метода. Белок гидролизуют трипсином до обработки реагентом, вызывающим окраску.

Метод. а) Гидролиз. 400 *мг* белка растворяют в 200 *мл* 0,5% Na_2CO_3 и переваривают со 100 *мг* панкреатина при 37° 5—7 дней. Гидролиз ведут до того момента, пока не выделится максимальное количество триптофана, что проверяют реакцией с HBrO—HBr.

б) Развитие окраски. Гидролизат фильтруют. К 50 *мл* аликвотного раствора добавляют 10 *мл* 2% раствора *п*-$(CH_3)_2 \cdot N \cdot C_6H_4CHO$ в 20% HCl и доводят до 100 *мл* концентрированной HCl. Раствор оставляют стоять на 48 час. и сравнивают окраску со стандартом. Стандарт приготовляется аналогичным образом и сохраняется в тех же условиях (свет и температура), что и опытный раствор.

Б. ВИДОИЗМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ПРЕДЛОЖЕННОЕ МЭЙ И РОУЗ [440]

Метод. 50—100 *мг* белка взвешивают в колбе и добавляют точно 100 *мл* соляной кислоты (1:1), содержащей 1 *мл* 5% раствора *п*-диметиламинобензальдегида в 10% H_2SO_4. Раствор оставляют на 24 часа при 35°, а затем еще на 40 час. при комнатной температуре. Образовавшуюся синюю окраску сравнивают с окраской казеина, обработанного аналогичным образом. Считается, что казеин содержит 1,5% триптофана.

Примечание. Гольм и Гринбенк [303] ведут реакцию при 37° в течение 8—10 дней и колориметрируют по стандарту триптофана.

В. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ФЮРТОМ И ДИШЕ [249]

Метод. Обрабатывают 2 *мл* раствора, содержащего 2 *мл* белка, в 30% растворе KOH несколькими каплями 2,5% HCOH и добавляют 15 *мл* чистой HCl (уд. вес 1,175). Перемешивают, оставляют стоять на 10 мин., добавляют 10 капель 0,05% раствора $NaNO_2$ и доводят до 20 *мл* концентрированной HCl. Фильтруют и производят отсчет. Чтобы удостовериться в максимальном развитии окраски, добавляют еще несколько капель раствора $NaNO_2$.

* Г. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ КРАУСОМ [388, 389]

Основы метода. Белок гидролизуют, индол и скатол, которые могут образоваться во время гидролиза, удаляют экстракцией толуолом и осаждают триптофан сернокислой ртутью. В качестве реагента, вызывающего окраску, употребляют ванилин.

Метод. а) Гидролиз. Белок гидролизуют 14% раствором барита при 100° (кипящая водяная баня) в течение 40 час. или обрабатывают панкреатином в течение 5 дней (см. Томас, [608]).

б) Осаждение. Определенную часть гидролизата, содержащую от 0,2 *мг* до 1 *мг* триптофана, обрабатывают 15% раствором $HgSO_4$ в 5% H_2SO_4. Спустя 2 часа осадок центрифугируют и промывают реактивом Дениже. Осадок суспендируют в 1 *мл* 2% раствора $HgSO_4$ и добавляют 0,4 *мл* 0,5% раствора ванилина в 50% уксусной кислоте и 12 *мл* концентрированной HCl. Через 24 часа колориметрируют.

Примечание. Реакцию можно проводить непосредственно с белковым гидролизатом. Краус [388] нашел, что при гидролизе белка баритом часть триптофана теряется. Потери составляют при определении методом Фолина 7% и методом Вуазенэ-Рода—20%. Напротив, Фюрт и Дише [249] утверждают, что триптофан в присутствии других аминокислот очень стоек при щелочном гидролизе. В тех случаях, когда содержание триптофана мало, добавляют 0,2 *мг* аминокислоты до осаждения $HgSO_4$. Если концентрация тирозина высока сравнительно с содержанием триптофана, то под действием $HgSO_4$ он может тоже частично выпасть в осадок. Есть указания, что NaCl мешает осаждению триптофана ртутными солями. Авторам не удалось подтвердить это.

Д. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ КОММОМ [377]

Основы метода. Альдегиды конденсируются с разной скоростью со свободным триптофаном и с триптофаном в белке. Поэтому рекомендуется пользоваться для стандарта не чистым триптофаном, а добавлять к нему белок, не содержащий триптофан, как, например, желатину.

Метод. 20—50 *мг* белка суспендируют в 2 *мл* воды и добавляют 2 *мл* 0,25% раствора $(CH_3)_2N \cdot C_6H_4CHO$ в 10% HCl или 2 *мл* 3,75% раствора HCHO в 10% HCl. Затем прибавляют 5—6 *мл* 10% HCl и 1 *мл* 5% раствора желатины в 10% HCl. Затем по стенке пробирки осторожно вливают 10 *мл* концентрированной H_2SO_4 и тщательно перемешивают с водным слоем. Раствор охлаждают и через 20 мин. колориметрируют по стандарту триптофана, приготовленному аналогичным образом.

Примечание. Результаты, получающиеся с *обоими* альдегидами, очень близки.

Е. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ТОМИЯМА И ШИГЕМАТСУ [614]

Метод. Растворяют 50 *мг* белка (казеин) в 2 *мл* 0,2% NaOH при 50°, охлаждают и добавляют 100 *мл* 19% HCl и 1 *мл* 5% раствора *п*-диметиламинобензальдегида в 10% H_2SO_4. Раствор оставляют стоять при 30° до развития максимальной окраски. Стандартные кривые устанавливаются по раствору триптофана, обработанному аналогично, или по раствору молибденовой голубой.

ж. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ БЕТСОМ [54]

Метод. Растворяют 50 *мг* белка (казеин) в 2 *мл* 0,1 н. NaOH и добавляют 0,5 *мл* 5% раствора *п*-диметиламинобензальдегида, 0,2 *мл* 1% раствора $NaNO_2$ и 25 *мл* концентрированной HCl. Оставляют стоять 15 мин. и разбавляют водой до 50 *мл*; через 15 мин. производят отсчет.

з. РЕАКЦИЯ ВУАЗЕНЭ-РОДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ САЛЛИВАНОМ, МИЛЛОНОМ И ЭВЕРИТОМ [599]

Метод. 100 *мг* казеина в эрленмейеровской колбе на 250 *мл* обрабатывают 99 *мл* 17,5% HCl и 1 *мл* 5% раствора *п*-диметиламинобензальдегида в 10% H_2SO_4. Раствор оставляют стоять в течение 15 мин. при 85°. Затем вводят 0,3 *мл* 0,3% раствора H_2O_2. Встряхивают, охлаждают и производят определение по стандарту казеина, приготовленному по Мэю и Роуз [440].

Примечания к альдегидным методам определения триптофана

Большое число методов, разработанных на основе качественной реакции Гопкинса-Коле и Вуазенэ-Рода для количественного определения триптофана, говорит о перспективности этой реакции в отношении простоты и точности. Однако достигнуть этой цели полностью не удалось.

Вуазенэ [665] подчеркивает, что окислительные агенты (KNO_3) увеличивают развитие окраски. Томас [608] отмечает необходимость проведения реакции в строго выдержанных условиях. Это относится не только к реагентам, но и к температуре и к освещению, при которых происходит развитие окраски.

Фюрт и Дише [249] показали, что развитие окраски представляет функцию количества воды и азотистой кислоты, взятых для реакции, и зависит от наличия или отсутствия защитного коллоида. Они утверждают, что небольшие колебания в количестве воды оказывают более значительное разрушительное действие на синюю окраску в отсутствие коллоида, чем в его присутствии. Это может создать впечатление, что негидролизованный белок содержит больше триптофана, чем гидролизат.

Рапопорт и Айчингер [538] показали, что окраска, образующаяся при реакции Вуазенэ, варьирует в зависимости от концентрации щелочи, употребляемой для растворения белка, и от концентрации формальдегида. На основании тщательных исследований методов, основанных на реакции Вуазенэ-Рода, проведенных Бойдом, следует, что образующаяся окраска является функцией количества окислителей ($NaNO_3$, $NaNO_2$, H_2O_2 и т. д.) и восстановителей (HCHO глюкоза и т. д.), находящихся в реакционной смеси, и функцией света, присутствия толуола, других химиче-

ских соединений и т. д. Окраска, образующаяся в каждый данный момент, представляет собой результирующую увеличения окраски и ее выцветания.

Бойд [117] обнаружил еще один фактор, усложняющий реакцию, а именно: разные белки дают окраски разных оттенков.

В 1940 г. Шоу и Мак-Фарлен сравнили между собой методы Вуазенэ-Рода (*п*-диметиламинобензальдегид и H_2O_2 как окислитель) и Гопкинса-Коле (глиоксиловая кислота). Стандартом служил триптофан. Они получили следующие результаты.

Вещество	Триптофан		
	Вуазенэ — Род		Гопкинс — Коле [576], %
	24 ч. при 37°, %	15 м. при 85°, %	
Казеин	2,4	2,5	1,2
Казеин гидролизованный	1,3	1,9	1,2
Эдестин	2,6		1,3
Триптофан	1,0	1,5	1,0
Триптофилглицин	1,3	2,0	1,0
Глицилтриптофан	1,4	2,0	1,0
Ацетилтриптофан	1,4	2,0	1,0

В заключение следует подчеркнуть, что все эти альдегидные реакции являются реакциями на индольное кольцо и специфичны для триптофана только в отсутствие других индольных соединений.

4. ДРУГИЕ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ НА ТРИПТОФАН

История вопроса. Образование окрашенных соединений при обработке индола и его производных окислительными агентами ($CaOCl_2$, KNO_2, $FeCl_3$, $CuSO_4$ и т. д.) в кислой среде было известно еще со времен работ Джаффе, Обермайера, Сальковского и др. с индиканом и индоксилсерной кислотой в моче.

Джоллс нашел, что при обработке индикана реактивом Обермайера ($FeCl_3$ — HCl) в присутствии тимола или других фенолов образуется интенсивная стойкая окраска. Многие из этих индольных реакций были проверены Гомером [304].

А. РЕАКЦИЯ С NaClO МИЛЛЕРА И ЛЯЙОНСА [453, 454]

Метод. Определенные части нейтрализованного гидролизата белка, содержащие около 0,7 *мг* триптофана, обрабатывают 0,15% раствором NaClO. К каждым 5 *мл* добавляют 0,2—1,8 *мл*

раствора, увеличивая каждый раз прибавляемое количество на 0,2 *мл*. Затем добавляют 5 или 10 капель 0,4 н. HCl и растворы, в которых развитие окраски оказалось наибольшим, немедленно экстрагируют изоамиловым спиртом. Отсчеты производят со стандартным раствором триптофана, приготовленным аналогичным образом.

Примечание. В первом варианте Миллер и Ляйонс пользовались реагентом Энгеля $NaClO - C_6H_5OH$. Но в дальнейшем они заметили, что реакция происходит так же хорошо и в отсутствие карболовой кислоты или других фенолов.

Б. РЕАКЦИЯ ДЖОЛЛСА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ АЛЬБАНЕСОМ И ФРАНКСТОНОМ [28]

Метод. *а*) Гидролиз. 1 *г* белка гидролизуют в течение 20—22 час. с 5 *мл* 20% NaOH. Раствор нейтрализуют до pH 7 уксусной кислотой и разбавляют таким образом, чтобы в каждых 2 *мл* раствора содержался 1 *мг* триптофана.

б) Развитие окраски. К 2 *мл* гидролизата добавляют 0,3 *мл* 3% $NaNO_2$ и 0,1 *мл* 10% уксусной кислоты. Непрерывно встряхивают в течение 10 мин., добавляют 0,3 *мл* 1% раствора $K_2S_2O_8$, 0,5 *мл* 1% раствора тимола в 95% спирте и 5 *мл* смеси, состоящей из 3 частей 40% трихлоруксусной кислоты и 2 частей концентрированной HCl. После каждого прибавления раствор перемешивают. Помещают на 5 мин. в кипящую воду, охлаждают 5 мин. во льду и удаляют водный бесцветный слой пипеткой. Затем разбавляют окрашенный слой до 5 *мл* ледяной уксусной кислотой и производят измерения со светофильтром 540 *μ*.

Примечание. Подобно альдегидным методам, методы Миллер-Ляйонса и Джоллс-Альбанеса не специфичны для триптофана. Окрашенные продукты образуются также и с другими соединениями, содержащими индол.

В. РЕАКЦИЯ НИКОЛЯ [480]

Основы метода. Триптофан обрабатывают азотистой кислотой и получившийся продукт конденсируют с N (I-нафтил) этилендиамином для получения красной окраски.

Реактивы. Приготовляют 0,1% раствор дихлоргидрата N (1-нафтил) этилендиамина. Хранят в темной склянке на холоду.

Метод. К 5 *мл* гидролизата, содержащего 0,1—0,3 *мг* триптофана в 1,2 н. HCl, прибавляют 1 *мл* 1% раствора $NaNO_2$. Оставляют стоять 30 мин., время от времени перемешивая. Добавляют 4 *мл* 4% раствора сульфамата аммония[16], перемешивают и дают постоять 10 мин. Затем вносят 10 *мл* H_2O и 5 *мл* реагента, вызывающего окраску. После 30—60 мин. стояния производят измерения со светофильтром 560 *μ*.

Примечание. Если в растворе содержатся вещества, которые влияют на образовавшуюся краску, то последнюю можно извлечь после достижения максимума. Для этого добавляют 10 *мл* нормального бутилового спирта и 5 *г* NaCl. После тщательного перемешивания фильтруют вытяжку бутилового спирта в чистую кювету. Все условия реакции надо соблюдать постоянными.

Раздел 4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИРОЗИНА И ТРИПТОФАНА

1. РЕАКЦИЯ МИЛЛОН-ФОЛИНА [231, 232, 233]

История вопроса. В 1922 г. Фолин и Люней [231] использовали реактив Дениже-Гопкинса — сернокислую ртуть — для отделения триптофана в белковом гидролизате от других аминокислот. В фильтрате определялся тирозин по реакции Миллон-Нассе [456, 472]. В осадке определялось содержание триптофана. Для этого пользовались его способностью восстанавливать фосфорномолибденовую кислоту [231] в щелочной среде. В дальнейшем для этого употреблялась смесь фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот [232].

А. МЕТОД ФОЛИНА И МАРЕНЦИ [233]

Реактивы. Смесь фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот (реактив Фолина *). 100 *г* $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ и 25 *г* $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ растворяют в 700 *мл* воды. Прибавляют 50 *мл* 85% H_3PO_4 и 100 *мл* концентрированной HCl. Смесь кипятят с обратным холодильником 10 часов. Затем прибавляют 150 *г* Li_2SO_4, 50 *мл* H_2O и несколько капель брома. Для удаления избытка брома раствор кипятят без холодильника в течение 15 мин. После охлаждения раствор доводят до 1 *л*, фильтруют и сохраняют в темной склянке.

15% раствор $HgSO_4$ в 6 н. H_2SO_4. 150 *г* $HgSO_4$ суспендируют в 400—450 *мл* 7н. H_2SO_4. Добавляют 150 *мл* воды и взбалтывают образовавшуюся суспензию до полного растворения. Раствор доводят до 1 *л* 7 н. H_2SO_4 и, если нужно, фильтруют.

1,5% раствор $HgSO_4$. К 100 *мл* 15% $HgSO_4$ — реагента добавляют 100 *мл* 14 н. H_2SO_4 и доводят раствор водой до 1 *л*.

14 н. серная кислота. 392 *мл* концентрированной H_2SO_4 доводят водой до 1 *л*.

Насыщенный раствор Na_2CO_3. Этот реактив не должен соприкасаться с резиной.

---

* Фенольный реагент.

Метод. а) Гидролиз. Фолин и Люней [231] кипятят белок с 14% раствором барита 40—48 час. с обратным холодильником. Фолин и Чиокальте [232] гидролизуют с 5 н. NaOH 18—20 час. Фолин и Маренци [233] нагревают раствор белка до 100° 12—18 час. с 5 н. NaOH. Фон Дезео [192] гидролизует белок 5 н. NaOH в автоклаве при 2—8 атмосферах в течение 2 час. Лагг [430] гидролизует 5,5 н. NaOH, содержащей 5% $SnCl_2 \cdot 2H_2O$. Гидролиз проводят в запаянных трубках в атмосфере азота или в вакууме 20 час. при 100° [17].

Мак-Фарлен и Фульмер [447] пользуются для гидролиза не щелочью, а пепсином и трипсином или одним трипсином. Этот метод следует особенно рекомендовать при анализе нечистых протеинов, как, например, пищевых продуктов и кормов. Обычно на каждые 100 *мг* белка берут 2 *мл* 5 н. NaOH. Гидролизат подкисляют, применяя 3 *мл* 7 н. H_2SO_4 на каждые 2 *мл* взятой 5 н. NaOH. Горячий раствор переносят в градуированный цилиндр на 25 *мл* и добавляют 200—500 *мг* каолина или другого адсорбента для фильтрования. Суспензию хорошо взбалтывают и фильтруют. Для каждого определения берут 20 *мл* фильтрата.

б) Разделение триптофана и тирозина. 20 *мл* подкисленного гидролизата помещают в 50 *мл* коническую центрифужную пробирку и прибавляют 4 *мл* 15% реагента $HgSO_4$. Пробирку оставляют стоять на 2 или 3 часа и центрифугируют в течение 5—10 мин. Фильтрат переносят в мерную колбу на 100 *мл* и смывают края центрифужной пробирки 1 *мл* 0,1 н. H_2SO_4. Ртутный осадок триптофана промывают 10 *мл* 1,5% реагента $HgSO_4$. Осадок перемешивают и спустя 10 мин. центрифугируют. Края пробирки смывают 0,1 н. H_2SO_4.

в) Определение тирозина. К фильтрату добавляют 6 *мл* 7 н. H_2SO_4, нагревают 5 мин. на кипящей бане, охлаждают и обрабатывают при взбалтывании 1 *мл* 2% $NaNO_2$. Спустя 2 мин. раствор разбавляют до 100 *мл* и производят измерения по стандарту, приготовленному одновременно.

г) Определение триптофана. К ртутному осадку триптофана добавляют 10 *мл* 1 н. HCl, нагревают 30 мин. в кипящей воде, охлаждают и фильтруют в мерную колбу на 100 *мл*. Раствор разводят до 60 *мл*, добавляют 25 *мл* холодного насыщенного раствора Na_2CO_3 и затем 5 *мл* фенольного реагента. Спустя 30 мин. разрушают избыток реагента 2—3 *мл* 5% раствора NaCN. Реакционную смесь доводят до 100 *мл* и сравнивают с одновременно приготовленным стандартом.

* Б. Реакция Миллон-Фолина, видоизмененная Блоком и Боллинг [95]

Основы метода. Этот способ основан на методе Фолин-Маренци [233] и методе Бернгарта [72], которые представляют видоизмененную реакцию Миллон-Нассе.

Реактивы. Пользуются фенольным реагентом и сернокислой ртутью, приготовленной по Фолину (см. выше).

Метод. а) Гидролиз. 100—500 *мг* белка гидролизуют 2—10 *мл* 5 н. NaOH с обратным холодильником в течение 4—5 час. Температура масляной бани 110—125° С. Щелочь нейтрализуют соответственно 3—15 *мл* 7 н. H_2SO_4. Холодильник смывают небольшим количеством воды, гидролизат переносят в градуированный цилиндр, доводят до желаемого объема и, если требуется, фильтруют.

б) Разделение тирозина и триптофана. В градуированные центрифужные стаканчики объемом в 40 *мл* наливают пипеткой аликвотные части раствора, содержащие приблизительно 0,3—0,6 *мг* тирозина. Доводят водой до 20 *мл.* Затем добавляют 6 *мл* «15% реагента $HgSO_4$» (Фолин) и помещают на 10 мин. в кипящую водяную баню. Затем растворы охлаждают, прибавляют 4 *мл* 7 н. H_2SO_4 и разбавляют водой до 40 *мл.* Добавляют 10—20 *мг* кизельгура (Celite — Johns Manville), перемешивают суспензию и центрифугируют в течение 5 мин. Фильтраты переносят в кюветы. Осадки триптофана промывают 1,5% раствором $HgSO_4$ в 6 н. H_2SO_4 (Фолин) порциями по 5 *мл,* каждый раз центрифугируя и добавляя фильтраты к основному раствору в кюветах.

в) Определение тирозина. Кюветы с раствором нагревают до 30° на водяной бане и добавляют в каждую по 1 *мл* 0,8% раствора $NaNO_2$. Растворы перемешивают и через 10 мин. производят отсчеты, сравнивая с водой или с раствором без нитрита. Пользуются светофильтром 520 μ.

Вычерчивают стандартную кривую для тирозина в пределах 0,15—0,80 *мг.*

г) Определение триптофана. Осадки триптофана с сернокислой ртутью разлагают, суспендируя в 3 *мл* 1 н. HCl и нагревая в кипящей воде 10 мин. Суспензию охлаждают и жидкость фильтруют через мягкий фильтр в градуированные пробирки с притертыми пробками на 25 *мл.* Центрифужные пробирки и фильтры промывают небольшими порциями воды до тех пор, пока объем раствора в каждой пробирке не достигнет приблизительно 15 *мл.* В каждую из них добавляют по 6 *мл* насыщенного раствора Na_2CO_3 и, после перемешивания, — 1 *мл* Фолиновского реагента (смесь фосфорномолибденовой кислоты и фосфорновольфрамовой). Растворы оставляют стоять на 30 мин. (в этот промежуток времени удобно добавлять $NaNO_2$ к растворам тирозина и производить измерение). Затем для прекращения реакции вносят в каждую градуированную пробирку по 0,5 *мл* 5% раствора NaCN. Растворы перемешивают, доводят до нужного объема и производят измерения, сравнивая с водой или со смесью гидролизата и всех реагентов, кроме

фенольного. Пользуются светофильтром 420 μ. Вычерчивают стандартную кривую для триптофана в пределах 0,10—0,40 *мг*.

Примечание. Было предложено очень большое число незначительных видоизменений к методу Миллон-Фолина. Все они дают удовлетворительные результаты, а некоторые значительно улучшают основной метод Фолина. В отличие от очень чувствительных альдегидных методов определения триптофана в методе Миллон-Нассе для тирозина и в методе Фолина со смесью фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот для триптофана можно без заметного ущерба изменять условия проведения реакции.

Абдергальден и Зибель [23] пользуются 7 *мл* 14 н. H_2SO_4 вместо 6 *мл* 7 н. H_2SO_4, рекомендованных Фолином и Маренци [233]. Для избежания образования мути Дезео [192] употребляет 5 *мл* 14 н. H_2SO_4. Джорпс [344] не отфильтровывает кремневую кислоту после подкисления H_2SO_4, а осаждает ее вместе с ртутносернокислым комплексом триптофана. Он кипятит растворы, содержащие ртутные производные тирозина, в течение 10—15 мин. и затем оставляет стоять на несколько часов при комнатной температуре. Если раствор мутный, то до прибавления $NaNO_2$ его фильтруют.

Балинт [45] при определении тирозина пользуется светофильтром 500, а при определении триптофана — фильтром 720. Автор употребляет относительно меньшее количество реактива Фолина и доводит конечный объем раствора до 20 *мл*. Содержание тирозина составляет от 0,2 до 2,0 *мг*, содержание триптофана 0,1—0,4 *мг*. Состав и реакции фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот были критически разобраны Вью [693].

Фуживара и Катаока [254] утверждают, что фенольный реагент Фолина и ему подобные неспецифичны. Они восстанавливаются не только фенолами, но и ароматическими альдегидами, алифатическими окси- и кетокислотами, гидроксиламином, фруктозой, оксиметилфурфуролом, инулином, производными индола, алкалоидами группы морфина и т. д. Шильд и Эндерс [566], тщательно изучавшие метод определения триптофана по Фолину, нашли, что даже после образования осадка с сернокислой ртутью смесь фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот дает положительную реакцию с «меланоидином», который получается в результате конденсации глюкозы с гликоколем. Таннин, пуриновые и пиримидиновые соединения после щелочного гидролиза, ацетон, индол и его производные, пиррол, пировиноградная кислота и целый ряд других природных веществ также дают положительную реакцию. Однако, как показали опыты, проведенные с дихлорфенолиндофенолом, способность к образованию окраски у этих соединений не стоит в пря-

мой связи с их восстановительным потенциалом. Шильд и Эндерс подчеркивают, что к данным по тирозину и триптофану, полученным методом Фолина, за исключением тех, которые получены с чистыми белками и аминокислотными смесями, следует относиться с осторожностью.

2. ПРИМЕНЕНИЕ РЕАКЦИИ МИЛЛОН-НАССЕ [456, 472, 15] ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОЗИНА И ТРИПТОФАНА

История вопроса. Хотя еще в 1907 г. Абдергальден и Кемпе [15] показали, что триптофан при нагревании с Миллоновым реактивом дает коричнево-красную окраску, но только в 1937 г. реакция Миллона была использована Лаггом [429] для количественного определения этой аминокислоты.

А. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИПТОФАНА ПО ЛАГГУ [429], ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ МИЛЛОН-АБДЕРГАЛЬДЕНА

Реактивы. 5 н. H_2SO_4. 25 *г* H_2SO_4 в 100 *мл* воды.

Реактив для осаждения. Растворяют 75 *г* $HgSO_4$, 55 *г* $HgCl_2$ и 70 *г* Na_2SO_4 в смеси из 850 *мл* воды и 125 *г* H_2SO_4 (68 *мл* уд. в. 1,84). Разводят до 1 *л*.

Реактив для промывания. Разбавляют реактив для осаждения равным объемом 1 н. H_2SO_4.

Реактив, вызывающий окраску. Растворяют 12 *г* $HgSO_4$ и 9 *г* $HgCl_2$ в смеси из 600 *мл* H_2O и 100 *г* H_2SO_4 (54 *мл* H_2SO_4 уд. в. 1,84). Затем добавляют еще 500 *г* H_2SO_4 (270 *мл*), охлаждают и разбавляют до 1 *л*.

Метод. а) Гидролиз [430]. 100 *мг* белка гидролизуют при 100° в течение 20—24 час. с 2 *мл* 5 н. NaOH или 5,5 н. NaOH, содержащими 5% $SnCl_2 \cdot 2H_2O$.

Если ведут щелочной гидролиз с добавлением $SnCl_2$, то полезно удалить межмицеллярный воздух из белка и вводить щелочь в вакууме. После окончания гидролиза удаляют олово трехкратным встряхиванием с цинковой пылью, употребляя 200 *мг* цинка на каждые 10 *мл* взятого реагента. Осадок центрифугируют и промывают 0,1 н. NaOH. Смешивают основной щелочной раствор с промывными водами и экстрагируют 1 или 2 объемами эфира или толуола для извлечения индола, скатола, фенола и т. д. по Краусу [388]. Щелочной раствор подкисляют, добавляя на каждые 10 *мл* NaOH 5 *мл* 15 н. H_2SO_4. Подкисленный раствор просветляют центрифугированием и еще раз экстрагируют 1—2 объемами эфира. Экстракт промывают небольшим количеством воды. Растворившийся эфир удаляют при 45° или при более низкой температуре.

б) Отделение триптофана от тирозина.

в) К 3 *мл* испытуемого раствора добавляют 5 н. H_2SO_4 до pH 0,3 (бриллиант крезол синий) и доводят объем до 5 *мл* прибавлением 1 н. H_2SO_4. К этому раствору прибавляют 5 *мл* «реактива для осаждения» и ставят на 30 мин. на водяную баню при 60—65°. Охлаждают в течение 1 часа при 18—20°, центрифугируют и промывают один раз 10 *мл* «раствора для промывания».

г) Определение тирозина. Фильтраты разбавляют в градуированном цилиндре до 24,5 *мл*, прибавляют 0,5 *мл* 6,9 *мол* $NaNO_2$, перемешивают и проводят отсчеты.

д) Определение триптофана. Ртутный осадок триптофана суспендируют в 10 *мл* «реактива, вызывающего окраску», и нагревают на водяной бане 15 мин. при 40—45°. Затем пробирки охлаждают в течение 30 мин. до 18—20° и осадок центрифугируют. Фильтрат переносят в градуированный цилиндр на 25 *мл*. Осадок суспендируют еще раз в 10 *мл* «реактива, вызывающего окраску», тщательно перемешивают и центрифугируют. Все полученные фильтраты разбавляют до 24,5 *мл* и добавляют 0,5 *мл/мол*. $NaNO_2$; растворы перемешивают и производят измерения после развития максимальной окраски.

Примечание. При гидролизе белка щелочью Лагг [430] предлагает вносить поправку на триптофан от 1 до 6%, если же гидролиз ведется щелочным раствором олова, то — 3%. Авторы полагают, что если необходимо внести поправку, то она должна зависеть от времени и температуры гидролиза и в особенности от анализируемого белка.

* Б. МЕТОД МИЛЛОН-ЛАГГА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БЛОКОМ И БОЛЛИНГ [95]

Реактивы. Употребляют сернокислую и хлорную ртуть по Лаггу (см. выше).

Метод. *а*) Гидролиз. Гидролизуют белок 5 н. раствором NaOH (на 100 *мг* белка 2 *мл* щелочи) на масляной бане при 110—125° в течение 5 час. Гидролизат нейтрализуют 7 н. H_2SO_4— 3 *мл* кислоты на каждые 2 *мл* 5 н. NaOH. Раствор разбавляют до желаемого объема и фильтруют, добавляя каолин, если это необходимо.

б) Разделение тирозина и триптофана. Определенные части раствора, содержащие около 0,3—0,6 *мг* тирозина, наливают пипеткой в градуированные центрифужные пробирки на 40 *мл*. Добавляют воды до 20 *мл*. Затем вносят 5 *мл* «реактива для осаждения» по Лаггу ($HgSO_4$ — $HgCl_2$ — Na_2SO_4) и помещают пробирки на 10 мин. в кипящую водяную баню. Растворы охлаждают и добавляют 4 *мл* 7 н. H_2SO_4. Разбавляют водой до 30 *мл* и прибавляют 10—20 *мг* кизельгура (Celite — Johns Manville). Перемешивают и центрифугируют в течение 5 мин. Фильтраты переносят в пробирки для измерения. Осадки промывают

10 *мл* реактива для промывания по Лаггу. Центрифугируют и промывные воды добавляют к основным фильтратам.

в) Определение тирозина. Нагревают измерительные пробирки с фильтратами до 30° на водяной бане и добавляют в каждую пробирку 1 *мл* 0,8% раствора $NaNO_2$, перемешивают и через 5 мин. производят измерения. Измеряют, сравнивая с водой или со смесью гидролизата и реактивов, кроме $NaNO_2$. Пользуются светофильтром 520 μ. Вычерчивают стандартную кривую для тирозина в пределах 0,15—0,80 *мг*.

г) Определение триптофана. Суспендируют промытый осадок ртутного комплекса триптофана в 10 *мл* реактива Лагга ($HgSO_4 — HgCl_2$), вызывающего окраску, и помещают центрифужные пробирки на 15 мин. в водяную баню, нагретую до 50—55°. Центрифугируют и переносят раствор в измерительные пробирки. Осадок промывают 10 *мл* реактива, вызывающего окраску, и после центрифугирования прозрачную жидкость добавляют к основному раствору в измерительных пробирках. Добавляют 4 *мл* воды. Вставляют измерительную пробирку в фотоэлектрический колориметр и устанавливают гальванометр на 100. Затем добавляют 1 *мл* 3,45% раствора $NaNO_2$, перемешивают раствор, перевертывая пробирку, и отмечают максимум отклонения гальванометра. Пользуются светофильтром 420 μ. Таким путем проводят отсчеты в каждой пробирке, пользуясь для сравнения соответствующим раствором гидролизата и реактива. Так как окраска обесцвечивается почти моментально после прибавления $NaNO_2$, то пробирки закрывают, взбалтывают и проводят отсчеты в течение 30 сек.

Примечание. К данным по содержанию триптофана, полученным по методу Миллон-Лагга на неочищенных препаратах белков, следует относиться с осторожностью. Авторы установили, что при определении триптофана в ряде белков кукурузы, гидролизованных сначала пепсин — HCl, а затем, как обычно, 5 н. NaOH, получаются ошибочные результаты.

Существует мнение, что ионы хлора мешают осаждению триптофана сернокислой ртутью и определению тирозина Миллоновой реакцией. Однако опыты авторов показали, что значительные количества хлоридов (NaCl) не мешают определению тирозина и триптофана по методу Миллон-Лагга.

3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОЗИНА И ТРИПТОФАНА (ХОЛИДЭЙ [302])

Основы метода. В разбавленном растворе NaOH тирозин и триптофан имеют разный максимум адсорбции в ультрафиолетовой части спектра.

Прибор. Пользуются кварцевым спектрографом E 316 Hilger Medium.

Метод. Белок растворяют в 0,1 н. NaOH и измеряют коэфициент затухания по двум длинам волн. Количество тирозина и триптофана рассчитывается следующим образом:

$$M \text{ тирозин} = 1{,}0\ E_{305} - 0{,}092\ E_{280},$$

$$M \text{ триптофан} = 0{,}21\ E_{280} - 0{,}288\ E_{305},$$

где M — молярная концентрация,
E — коэфициент затухания.

Примечание. В связи с возможными потерями аминокислот при гидролизе и других химических операциях становится понятным стремление исследователей к разработке методов определения аминокислот в нативной или только слегка измененной белковой молекуле. Однако, несмотря на большие перспективы, спектрофотометрические методы, требующие очень специального оборудования, не дают в настоящее время более точных результатов, чем химические методы [18].

Примечания к анализам триптофана и тирозина

Хотя в этой главе уже кратко обсуждались специфические преимущества и недостатки различных методов, но относительная ценность их еще не рассматривалась. К сожалению, лишь немногие исследователи пользовались несколькими методами при анализе отдельных аминокислот. Это и понятно, потому что, когда исследователь овладевает той или иной методикой, он редко стремится овладеть еще второй или третьей и этим «подтвердить» свои собственные результаты. Однако в тех случаях, когда исследователь пользуется несколькими методами, получаются несомненно интересные результаты.

Тирозин. Ханке [281] утверждает, что при правильном проведении диазореакции Паули она не уступает методу Миллона. С другой стороны, Холидэй [302] и Девайн [195] нашли, что метод Миллон-Фолина и спектрофотометрический метод дают совпадающие результаты при определении тирозина в казеине, белках крови и т. д.

Триптофан. В отличие от совпадающих результатов, получаемых для тирозина (методы Паули, Миллона и спектрофотометрический), данные по триптофану, получаемые различными методами, расходятся между собой. Из старых сравнительных данных мы приведем лишь немногие. Более подробно с ними можно ознакомиться в таблицах в конце этой главы.

Холидэй [302] утверждает, что при определении триптофана в альбуминах и глобулинах сыворотки крови и в казеине по ме-

тоду Фолина с фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислотами и спектрофотометрически получаются сравнительно близко совпадающие результаты. Напротив, в исследовании белка Бенс-Джонса Девайн [195] находит по методу Фолина 1,4% триптофана, а спектрофотометрически — 2,5%.

Ли, Ляйонс и Эванс [419] определяли содержание триптофана в лактогенном гормоне гипофиза: по методу Миллон-Лагга найдено 1,3%, а по методу Гопкинс-Шоу — 2,5% аминокислоты. Росс [556] сообщает об аналогичных расхождениях при определении триптофана в вирусе табачной мозаики. Он нашел по методу Миллон-Лагга 2% и по методу Гопкинс-Шоу с глиоксилевой кислотой — 4,5% триптофана. Найт [556] подтверждает эти расхождения, вызванные методикой.

По Мак-Фарлену и Фульмеру [447], содержание триптофана в казеине равно 1,4% при определении методом Фолина и — 2,4% при пользовании методом Род-Комма с *п*-диметиламинобензальдегидом. При гидролизе казеина не щелочью, а последовательно пепсином и трипсином и при определении методом Фолина с фенольным реагентом находят 1,3% триптофана. Эта величина совпадает с данными, получаемыми при реакции с ванилином по методу Вуазенэ-Крауса.

С другой стороны, Мак-Фарлен, Фульмер и Джюкс [448] получили удовлетворительно совпадающие результаты при определении триптофана в белке яйца со смесью фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот по Фолину, с *п*-диметиламинобензальдегидом по Род-Мэю и с ванилином по Вуазенэ-Краус. Тем не менее, Мак-Фарлен не считал, повидимому, ни один из этих методов вполне удовлетворительным и дающим абсолютные значения, так как несколько лет спустя Шоу и Мак-Фарлен [576, 577] провели исследование с целью улучшения глиоксилевого метода Гопкинс-Винклера.

Салливан, Миллон и Эверит [599] видоизменили метод Род-Мэя с диметиламинобензальдегидом. При этом в казеине было найдено 2,4% триптофана, если стандартом служил казеин. Но если в качестве стандарта применяли триптофан, то содержание его в казеине оказывалось «не выше 1,25%».

Шоу и Мак-Фарлен [577] нашли в казеине следующие количества триптофана: 2,4% по методу Мэя и Роуз (реакция Вуазенэ-Рода с *п*-диметиламинобензальдегидом), 2,5% — по методу Салливана и — 1,2% по реакции Гопкинс-Винклера с глиоксилевой кислотой (модификация авторов).

Боллинг и Блок [112] показали, что при определении триптофана в β-лактоглобулине фенольным методом Фолина и по методу Миллон-Лагга получаются идентичные результаты. Но в соответствии с наблюдениями Шильда и Эндерса [566] и др. оказалось, что метод определения триптофана по Фолину в при-

менении к гидролизатам неочищенных белков может дать повышенные результаты. Это видно из таблиц в конце главы (особенно при исследовании кормов и пищевых продуктов).

Все вышеизложенное приводит к заключению, что ни для одного белка не известно «истинное» или абсолютное содержание триптофана. Однако в отсутствие веществ, которые влияют на получаемые результаты, увеличивая или понижая их, многие из этих методов дают сравнимые результаты.

Раздел 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА (ФИШЕР [220])

История вопроса. Фенилаланин, найденный в растительных белках в 1885 г. Шульце, Барбьери и Босгардом [574], был затем выделен Фишером из казеина. Это был один из первых случаев применения эфирного метода.

Метод. а) Казеин гидролизуют концентрированной HCl нагреванием с обратным холодильником в течение 6 час. Фишер [220] указывает, что при увеличении времени гидролиза до 36 час. выход эфиров не повышается.

б) Из гидролизата выделяют глютаминовую кислоту по методу Глазивича и Габермана [300].

в) Аминокислоты этерифицируют абсолютным спиртом и сухим хлористым водородом.

г) HCl удаляют едким натром и поташем при 0°. Эфиры аминокислот извлекают серным эфиром.

д) Эфирный раствор сушат поташем, а затем Na_2SO_4.

е) Эфиры фракционируют в вакууме.

ж) Эфир фенилаланина перегоняется в высококипящей фракции. В отличие от хлористоводородных солей эфиров других аминокислот хлоргидрат эфира фенилаланина растворим в эфире. Это дает возможность легко отделить его от других высококипящих эфиров аминокислот.

з) Фенилаланин идентифицируют в виде фенилизоцианата или медной соли. Окислением до фенилацетальдегида пользовались как тонкой качественной реакцией.

Примечание. Осборн и Джонс [501] показали, что даже при самом тщательном выполнении эфирного метода Фишера можно выделить только около 70% от всего количества фенилаланина, находящегося в аминокислотной смеси. Абдергальдену и Вайлю [19] удалось получить только 55% фенилаланина из аминокислотной смеси.

2. ОКИСЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА ДО БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ [ШУЛЬЦЕ-КОЛЬМАН]

Основы метода. По данным Шульце, Барбьери и Босгарда [574], фенилаланин при окислении хромовой кислотой образует бензойную кислоту и бензальдегид. Эта реакция была использована Кольманом [376] для определения фенилаланина в белковых гидролизатах.

Метод. а) Гидролиз. Белок нагревают с 25% H_2SO_4 30 час., после чего гидролизат тщательно экстрагируют эфиром для удаления всех жирных кислот.

б) Окисление. К водному раствору добавляют $K_2Cr_2O_7$ и H_2SO_4 в таких количествах, чтобы он содержал 20 весовых частей $K_2Cr_2O_7$ и 17 весовых частей H_2SO_4. Раствор нагревают с обратным холодильником в течение 5—6 час.

в) Экстракция бензойной кислоты. После охлаждения окислительной смеси бензойную кислоту извлекают эфиром. Эфирную вытяжку сушат над Na_2SO_4 и растворитель отгоняют. Бензойную кислоту перекристаллизовывают из горячей воды, предварительно насыщенной на холоду бензойной кислотой.

Примечание. Опыты Шульце с сотрудниками [574] заставляют предполагать, что результаты анализа по этому методу низки и непостоянны.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА НИТРОВАНИЕМ С ПОСЛЕДУЮЩИМ ВОССТАНОВЛЕНИЕМ (КАПЕЛЛЕР-АДЛЕР [350])

История вопроса. Капеллер-Адлер [350] поставила себе целью упростить определение фенилаланина по методу окисления Шульце-Кольман, определяя образующуюся бензойную кислоту по Молеру [464]. По методу Молера бензойную кислоту нитруют $NaNO_3$ в дымящей H_2SO_4. При этом, по мнению Капеллер-Адлер [350], образуется 3,5 динитробензойная кислота, а по Блоку и Боллинг [98] — 3,6 динитробензойная кислота. Как будет видно ниже, Капеллер-Адлер установила, что фенилаланин окисляется и нитруется не до 3,5 или 3,6 динитробензойной кислоты, как предполагалось, а дает 3,4 динигробензойную кислоту и другие производные 3,4 динитробензола.

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНИЛАЛАНИНА ПО КАПЕЛЛЕР-АДЛЕР [350]

Метод. а) Гидролиз. 1,5—3,0 *г* белка гидролизуют 20 час. с 25% H_2SO_4. Разбавляют раствор до 100 *мл* и доводят содержание серной кислоты до 10%.

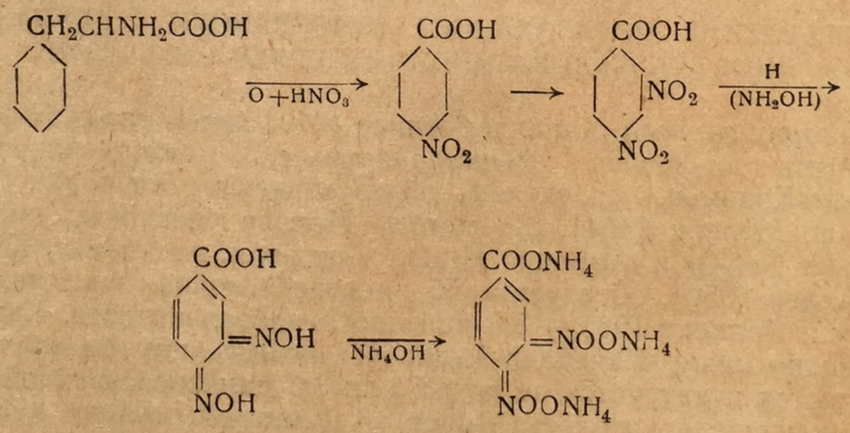
б) Осаждение гистидина. Из гидролизата осаждают гистидин 10% раствором фосфорно-24-вольфрамовой кислоты в 10% H_2SO_4. Избытка реагента избегают. Осадок промывают разбавленным раствором реагента. Общий объем — 200 *мл*.

в) Разрушение тирозина. К 20 *мл* раствора аминокислот (1—4 *мг* фенилаланина), из которого удален гистидин, добавляют небольшой избыток 0,1 н. раствора $KMnO_4$. Упаривают раствор на паровой бане, проверяя от времени до времени, достаточно ли в растворе $KMnO_4$. Если необходимо, добавляют еще $KMnO_4$.

г) Окисление и нитрование. Раствор концентрируют до густого сиропа и охлаждают; затем добавляют 2 *мл* 10% раствора KNO_3 в концентрированной H_2SO_4. Нагревают на паровой бане в течение 20 мин., опять охлаждают и переносят в мерный градуированный цилиндр с притертой пробкой на 25 *мл*, смывая 7 *мл* воды. Охлаждают до 0°.

д) Развитие окраски. Добавляют 5 *мл* 15% раствора солянокислого гидроксиламина и доводят до метки концентрированным раствором аммиака. После прекращения выделения азота реакционную смесь помещают на 5 мин. в водяную баню, нагретую до 40°, охлаждают до 0° в течение 15 мин. и производят отсчеты.

Примечание. Капеллер-Адлер [350] предполагает следующий механизм реакции:



Б. МЕТОД КАПЕЛЛЕР-АДЛЕР, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ КУНОМ И ДЕНЮЭЛЕМ [393]

Основы метода. Если проводить измерение в фотометре с соответствующим светофильтром, то можно не удалять гистидина и не разрушать тирозина. В качестве восстановителя применялась аскорбиновая кислота.

Метод. Определенная часть белкового гидролизата, содержащая 1—4 *мг* фенилаланина, упаривается досуха. Добавляют 2 *мл* 10% раствора KNO_3 в концентрированной H_2SO_4 и нитруют в течение 20 мин. на паровой бане. Остаток растворяют в 9 *мл* воды. Раствор подщелачивают аммиаком, охлаждают и вносят 0,5 *мл* свежеприготовленного 1% раствора аскорбиновой кислоты. Разбавляют концентрированным аммиаком до 25 *мл*. Производят отсчет со светофильтром 530 μ.

Примечание. Окрашенное соединение, вероятно, представляет собой смесь, состоящую главным образом из *п*-нитрофенилгидроксиламина и небольшого количества *о*-нитрофенилгидроксиламина в виде монощелочных солей.

* В. МЕТОД КАПЕЛЛЕР-АДЛЕР — КУНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БЛОКОМ И БОЛЛИНГ [104]

Метод. В 4 фарфоровые 30-*см* выпарительные чашки наливают определенную часть гидролизата, содержащего приблизительно 0,75 *мг* фенилаланина. В 4 другие фарфоровые чашки наливают двойное количество гидролизата. Упаривают досуха на паровой бане и охлаждают. Затем нитруют в течение 20 мин. 2 *мл* 20% раствора KNO_3 в концентрированной H_2SO_4, нагревая на паровой бане. Когда нитрование закончится, растворы переносят в градуированные 25 *мл* цилиндры с притертой пробкой. Конечный объем не должен превышать 12 *мл*. Охлаждают до 0° и в 3 цилиндра каждой серии добавляют по 2,5 *мл* 30% раствора солянокислого гидроксиламина. Четвертый служит для контрольного опыта. Охлаждают во льду и разбавляют *холодным* концентрированным раствором NH_4OH до 25 *мл*. Во время прибавления аммиака хорошо перемешивают. Соблюдать осторожность! Для развития окраски оставляют стоять при комнатной температуре на 45 мин. Если необходимо, в течение этого времени раствор профильтровывают. Производят измерения, сравнивая со смесью гидролизата и реактивов, не содержащей солянокислого гидроксиламина. Пользуются светофильтром 520 μ. Определение проводят в пределах 0,5—2,0 *мг* фенилаланина.

Примечание. Блок и Боллинг [98] отмечают, что только около 25—30% всего фенилаланина, находящегося в аминокислотной смеси, нитруется до 3,4 динитропроизводного. Несмотря на это, метод, повидимому, является наилучшим из всех известных в настоящее время, за исключением, конечно, высоко специфического изотопного метода.

Как указывалось в этой главе выше (раздел 1), условия гидролиза влияют на выход фенилаланина [105, 370, 238, 112].

Если в смеси находится фенилмолочная кислота, она будет определяться вместе с фенилаланином [321].

Раздел 6

ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИОКСИФЕНИЛАЛАНИНА, ДИИОДТИРОЗИНА И ТИРОКСИНА

1. ДИОКСИФЕНИЛАЛАНИН (АРНОУ [36])

Основы метода. Диоксифенилаланин и многие другие ди- или триоксибензолы дают с нитритом в щелочной среде красное окрашивание.

Реактивы. Смесь нитрита и молибдата Na. Растворяют 10 *г* $NaNO_2$ и 10 *г* Na_2MoO_4 в 100 *мл* воды.

Стандарты. Окраска, получаемая с 19,2 *мг* пирокатехина, совпадает с окраской, которую дают 50 *мг* диоксифенилаланина.

Метод. К 1 *мл* раствора (0,02—1,0 *мг* аминокислоты), помещенного в 5-*мл* градуированную пробирку, добавляют 1 *мл* 0,5 н. HCl и 1 *мл* нитрит-молибдатного реактива. Затем вносят 1 *мл* нормального раствора NaOH и разводят до 5 *мл* водой. Измерение производят по соответствующему стандарту, пользуясь светофильтром Wratten 61,500 μ.

Примечание. Молибдат прибавляют для предотвращения слишком быстрого распада азотистой кислоты.

2. ДИИОДТИРОЗИН И ТИРОКСИН

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИРОКСИНА ПО БЛАУ [76]

Основы метода. Этот способ является модификацией метода Леланда и Фостера.

Метод. (Кратко.) *а*) Гидролиз. 1 *г* сухой щитовидной железы гидролизуют 50 *мл* 8% $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ в течение 6 час. Для избежания вспенивания прибавляют 2 *мл* бутилового спирта. Охлаждают и переносят в мерную колбу на 100 *мл*. Бутанол облегчает перенос гидролизата. Смывают стенки колбы 5 *мл* 10% HCl и доводят до 100 *мл*.

б) Экстракция бутанолом. 50 *мл* раствора наливают в делительную воронку на 250 *мл*, добавляют 0,5 *мл* раствора бромкрезолзеленого и титруют раствором HCl (1 : 1) до pH 3,4—4,0. Экстрагируют равным объемом бутанола. Оставляют стоять на 2 часа или более продолжительное время и отделяют водный слой. Добавляют равный объем 4 н. NaOH, содержащего 5% Na_2CO_3. Встряхивают и оставляют стоять час или дольше. Отделяют водный слой и экстрагируют слой бутанола раствором $NaOH — Na_2CO_3$ (половинный объем). Спиртовый слой упаривают досуха и определяют в остатке содержание тироксина по иоду.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИИОДТИРОЗИНА И ТИРОКСИНА — РЕАКЦИЯ МИЛЛОН-НАССЕ, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ЛАГГОМ [430, 123]

Основы метода. Фенолы, содержащие галоид в орто-положении, не дают Миллоновой реакции. Галоид удаляется во время гидролиза только в том случае, если гидролиз белка ведется при 100° 5,5 н. NaOH в присутствии восстановителя 5% $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ (Лагг [430]).

Метод. (Кратко.) Одну навеску белка, содержащую дииодтирозин и тироксин, гидролизуют 5 н. NaOH, другую — 5,5 н. NaOH с 5% содержанием $SnCl_2 \cdot 2H_2O$. В обоих гидролизатах определяют «тирозин» по методу Миллон-Лагга (см. выше).

Тироксин и дииодтирозин рассчитывают следующим образом:

$$E = 0{,}713ID + 0{,}286I(1 - D),$$

где E — дополнительное количество тирозина, найденное в гидролизате, полученном с $SnCl_2$ — NaOH;
I — общее количество иода;
ID — количество иода в дииодтирозине;
$I(1-D)$ — количество иода в тироксине.

Раздел 7

СОДЕРЖАНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКАХ

Все нижеприведенные в таблицах данные рассчитаны на 16,0% азота. В тех случаях, когда авторы не приводят содержания азота, данные по аминокислотам пересчитаны на азот, указанный в скобках. Если исследователь выражает количество аминокислот в процентах от общего азота, то эти величины тоже пересчитаны на 16,0% азота, но в таблице содержание азота не указывается. О значении «Наиболее правильные данные» и о расчете средних величин см. гл. I, раздел 7. Под заголовком «Метод» указывается основа метода, применявшегося для определения тирозина, триптофана и фенилаланина соответственно. Обозначение «Миллон» относится к одному из видоизменений Миллоновой реакции для тирозина; «Миллон-Лагг» обозначает реакцию Миллона, модифицированную Лаггом для тирозина и триптофана. «Фолин» обозначает применение фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот для определения тирозина или триптофана (обычно — триптофана). «Капеллер» относится к методу определения фенилаланина по Капеллер-Адлер или к видоизменениям этого метода и т. д.

АЛЬБУМИНОИДЫ

Содержание ароматических аминокислот в *желатине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			0,0		
Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	16,6	0,3	0,0	1,9	свиная кожа
Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	16,0	0,2	0,0	2,3	кость
Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,4	0,2	0,0	2,1	Coignet
Выделение	Дэкин — 185	18,0			1,4	
Миллон, Фолин	Фолин — 231		следы	0,0		
Миллон, Паули-Ханке	Фюрт — 248	(16,0)	0,0			
Вуазенэ	Фюрт — 249	(16,0)		0,0		
Паули-Ханке	Ханке — 280	(16,0)	0,3			
Миллон-Фолин	Холидэй — 302	(16,0)	0,0	0,0		
Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(16,0)	0,4	0,1		
Род-Мэй	Джонс — 342	(16,0)		0,0		
Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(16,0)			1,2	
Кольман	Кольман — 376	(16,0)			0,3 *	
Вуазенэ-Краус	Краус — 388	(16,0)		0,1		
Род-Мэй	Мэй — 440	(16,0)		0,0		
Фолин	Мэй — 440	(16,0)		0,0		
Хроматография	Гордон 261 д				1,9 *	
Среднее			0,2	0,0	1,2	1,8

* Не вошли в расчет среднего.

АЛЬБУМИНОИДЫ

Содержание ароматических аминокислот в *эластине, коллагене и аналогичных белках*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Эластин	Фишер	Абдергальден — 4	(17,1)			3,7
Эластин	Гернгросс	Гернгросс — 256	(17,1)	1,5		
Эластин	Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(17,1)			3,1
Эластин	Миллон-Лагг	Штейн — 586	17,1	1,5	0,0	
Коллаген		Тейс — 604	(16,0)	1,0		
Хрусталик	Выделение	Хийиката — 298	(16,0)	4,5		
Нейрожелатина	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	14,7	3,5	0,9	4,7
Желатина рыбы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,8	0,8	0,9	1,9
Желатина рыбы	Миллон, Лагг	Не опубликовано	11,8	0,8	0,7	

Альбуминоиды

Желатина. Желатина содержит, повидимому, определенное, хотя и небольшое количество тирозина. Пользуясь специфической цветной реакцией, Гернгросс [256] устанавливает, что содержание тирозина в желатине колеблется от 0,0 до 1,0%. Истинное содержание его зависит от метода приготовления желатины из коллагена. Если применяются сильные белящие средства, как например, гипохлориты, то весь триптофан и значительная часть тирозина, содержащиеся в природном коллагене, разрушаются.

Эластин. По содержанию ароматических аминокислот этот белок в некоторой степени близок к коллагену (желатине).

Нейрожелатина. Этот растворимый в горячей воде протеин получают экстракцией ткани мозга, слабо подкисленной горячей водой. Нейрожелатина значительно богаче ароматическими аминокислотами, чем желатины, полученные из кости или кожи.

БЕЛКИ ЖИВОТНЫХ

Содержание ароматических аминокислот в *животных* *

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Крыса, возраст 2 дня	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	13,3	3,0	0,8	3,5
Крыса, возраст 2 дня	Миллон, Фолин	Не опубликовано	13,3	3,0	0,7	
Крыса, возраст 23 дня	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,1	3,2	1,0	4,3
Крыса, возраст 23 дня	Миллон, Фолин	Не опубликовано	11,1	3,6	0,7	
Крыса, возраст 100 дней	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	13,4	3,2	0,7	3,8
Крыса, возраст 100 дней	Миллон, Фолин	Не опубликовано	13,4	2,9	0,6	
Крыса, возраст 18 мес.	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,2	3,2	0,8	4,3
Крыса, возраст 18 мес.	Миллон, Фолин	Не опубликовано	12,2	3,2	0,8	
Крыса (безбелковая диэта)	Миллон, Фолин	Не опубликовано	13,1	3,1	0,6	
Цыпленок, эмбрион	Миллон, Фолин	Колвери — 141	(15,0)	4,6	2,1	

* К общему весу. (*Прим. перев.*)

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в *фибрине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Крупный рогатый скот Swift	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	13,4	5,0	3,7	6,0
Крупный рогатый скот [a]	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	9,8	5,5	3,3	8,5
Крупный рогатый скот	Миллон, Фолин	Не опубликовано	13,3	6,4	3,8	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Крупный рогатый скот	Миллон-Лагг	Не опубликовано	13,3	5,9	3,9	
Крупный рогатый скот	Миллон-Лагг	Бранд — 123	17,7	5,7	3,4	
Крупный рогатый скот[б]	Миллон-Фолин	Фолин — 231	(17,0)	5,6	2,8	
Крупный рогатый скот	Миллон-Фолин	Фолин — 231	(17,7)	5,9	2,6	
Крупный рогатый скот?	Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(17,7)	4,2		
Крупный рогатый скот?	Гернгросс	Гернгросс — 256	(17,7)	5,9		
Крупный рогатый скот	Паули-Ханке	Ханке — 280	(17,7)	3,1		
Крупный рогатый скот?	Род-Мэй	Хольм — 303	(17,7)		4,5	
Крупный рогатый скот?	Род-Мэй	Джонс — 342	(17,7)		4,0	
Крупный рогатый скот	Миллон-Фолин	Джорпс — 344	16,8	5,1	3,8	
Крупный рогатый скот	Кольман	Кольман — 376	(17,7)			2,0[в]
Крупный рогатый скот?	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(17,7)		1,9	
Крупный рогатый скот?[б]	Миллон	Цуверкалов — 699	(16,0)	6,5		
Крупный рогатый скот[б]	Вуазенэ-Краус	Краус — 389	(16,0)		3,0	
Овца	Паули-Ханке	Ханке — 280	(17,7)	3,0		
Боров	Паули-Ханке	Ханке — 280	(17,7)	3,1		
„Наиболее правильные данные"				6,0	3,5	7
Среднее и ×S. E.				5,1±±0,7	3,4±±0,4	

а Не вошли в расчет среднего.

б Пептон *Witte*.

в Пептон *Difco*.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в *гемоглобинах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Лошадь	Фишер	Абдергальден — 2	16,8			3,9
Лошадь	Миллон, Капеллер	Блок — 94	16,7	2.0		6,7 *
Лошадь?	Миллон, Фолин	Фолин — 233	(16,7)	3,0	1,2	
Лошадь	Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(16,7)	2,7		
Лошадь	Миллон, Фолин	Джорпс — 344	16,8	2,6 *	1,1 *	
Лошадь	Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(16,8)			5,1
Лошадь?	Кольман	Кольман — 376	(16,8)			3,4
Крупн. рог. скот	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 94	16,1	2,0	1,0	6,8
Овца	Миллон, Капеллер	Блок — 94	16,8	2,1		6,9
Свинья	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,0	2,0	1,1	6,3
Черепаха	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,5	2,6	1,5	7,0
	Среднее и 2 × S. E.			2,4± ±0,3	1,2	5,8± ±0,9

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в *глобинах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Крупный рог. скот	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,6	3,1	2,2	
Лошадь	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,8	3,2	2,3	
Собака	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,6	3,4	2,8	
Морская свинка	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,7	2,5	1,8	
Человек	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,7	2,7	2,2	
Человек	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	16,2	3,4	1,4	7,8
Человек	Миллон-Лагг	Не опубликовано	16,2	3,0	1,3	
Кролик	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,6	3,6	2,9	
Овца	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,8	3,5	2,5	
Свинья	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,3	3,0	2,2	
	Среднее и 2 × S. E.			3,1± ±0,2	2,2± ±0,3	

Следует отметить различие между данными по содержанию триптофана, полученными по методу Фолина и Миллона-Лагга, с одной стороны, и методом Вуазенэ — с другой.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в *серумальбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Лошадь [в]	Миллон-Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	4,2	0,8	
Лошадь [г]	Миллон-Фолин	Хьюитт — 296		5,3 [а]	0,3 [а]	
Лошадь [г]	Миллон-Фолин	Хьюитт — 296		6,6 [б]	1,2 [б]	
Лошадь	Миллон-Фолин	Холидэй — 302	(16,0)	5,9	0,8	
Лошадь	Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(16,0)	7,3	0,7	
Лошадь [г]	Миллон-Фолин	Джорпс — 344	(16,0)	4,3	1,0	
Лошадь? [г]	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(16,0)		2,7	
Лошадь?	Фолин	Райнер — 543		4,4		
Лошадь? [г]	Миллон-Фолин	Фолин — 233	(16,0)	4,7	0,5	
Лошадь?	Вуазенэ	Фюрт — 249	(16,0)		1,2	
Крупн. рог. скот [в]	Миллон-Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	4,4	0,8	
Крупн. рог. скот [в]	Миллон-Фолин	ф. Дезео — 193	(16,0)	4,9—5,3	1,0—1,4	
Крупн. рог. скот	Миллон-Фолин	ф. Дезео — 193	(16,0)	4,4—5,7	0,8—2,0	
Крупн. рог. скот	Фолин	Райнер — 543		4,0		
Человек [е]	Миллон-Фолин	Балинт — 46	(16,0)	4,8±±0,3	0,7±±0,1	
Человек [д]	Миллон-Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,7	4,5	0,5	7,9
Человек [в]	Миллон-Фолин	Не опубликовано	14,7	4,4	0,6	
Человек [е]	Фолин	Райнер — 543		4,8		
Человек [е]	Миллон-Фолин	Мюррилль — 460	13,5	4,9	0,8	
Кролик [в]	Миллон-Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	5,9	0,5	

[а] Менее растворимый кристаллический альбумин.
[б] Более растворимый кристаллический альбумин.
[в] $(NH_4)_2SO_4$.
[г] Кристаллич.
[д] K_2HPO_4.
[е] Na_2SO_4.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кролик	Фолин	Райнер — 543		5,7		
Обезьяна	Фолин	Райнер — 543		3,9		
Собака	Фолин	Райнер — 543		5,1		
Кошка	Фолин	Райнер — 543		5,1		
Свинья	Фолин	Райнер — 543		3,9		
Овца	Фолин	Райнер — 543		5,0		
Крыса	Фолин	Райнер — 543		5,0		
Морская свинка	Фолин	Райнер — 543		4,2		
Цыпленок	Фолин	Райнер — 543		4,7		
Среднее				4,9	1,0	

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в *серумглобулине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Лошадь	Фишер	Абдергальден — 5	(16,0)			3,8	
Лошадь	Миллон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	5,7	1,9		эу глобулин
Лошадь	Миллон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	5,9	1,7		псевдоглобулин
Лошадь	Миллон, Фолин	Колвери — 144	16,0	5,5	2,0		Pneumococcus antiserum
Лошадь	Миллон, Фолин	Колвери — 145	(16,0)	5,5	2,1		
Лошадь?	Вуазенэ	Фюрт — 249	(16,0)		3,1		
Лошадь?	Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(16,0)	3,8			
Лошадь	Миллон, Фолин	Холидэй — 302	(16,0)	7,1	2,2		эуглобулин
Лошадь	Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(16,0)	6,9	2,6		эуглобулин
Лошадь	Миллон, Фолин	Холидэй — 302	(16,0)	6,3	2,4		псевдоглобулин
Лошадь	Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(16,0)	5,8	2,9		псевдоглобулин
Лошадь	Миллон, Фолин	Джорпс — 344	15,5	5,5	2,4		
Лошадь?	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(16,0)		2,5		
Лошадь	Фолин	Райнер — 543		4,1			

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	6,6	1,9		эуглобулин
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	6,6	1,7		псевдоглобулин
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	ф. Дезео — 193	(16,0)	4,7—5,9	1,6—2,0		$(NH_4)_2SO_4$
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	ф. Дезео — 193	(16,0)	3,6—5,1	0,9—2,6		теленок
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	Фолин — 231	(16,0)	6,7	2,3		
Крупный рог. скот	Фолин	Райнер — 543		4,6			
Человек	Миллон, Фолин	Балинт — 46	(16,0)	6,2±±0,4	2,0±±0,3		Na_2SO_4
Человек	Миллон, Капеллер	Не опубликовано	14,2	5,6		6,8	K_2HPO_4
Человек	Миллон, Капеллер	Не опубликовано	14,1	5,1		5,0	$(NH_4)_2SO_4$
Человек	Милон, Фолин	Мюрриль — 469	(14,0)	6,4	2,4		Na_2SO_4
Кролик	Милон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	5,9	1,6		эуглобулин
Кролик	Милон, Фолин	Абдергальден — 23	(16,0)	5,8	1,6		псевдоглобулин
Кролик	Фолин	Райнер — 543		4,3			
Обезьяна	Фолин	Райнер — 543		5,1			
Кошка	Фолин	Райнер — 543		5,1			
Свинья	Фолин	Райнер — 543		4,0			
Овца	Фолин	Райнер — 543		5,8			
Крыса	Фолин	Райнер — 543		4,2			
Морская свинка	Фолин	Райнер — 543		5,2			
Цыпленок	Фолин	Райнер — 543		4,7			
Среднее				5,1	2,1		

10 Зак. 4624. Блюм и Боллинг.

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в белках *сыворотки*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Человек	Миллон, Фолин	Балинт — 46	(16,0)	5,5±±0,3	1,4±±0,3		
Человек	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 105	14,9	4,4		5,4	
Человек	Миллон, Фолин	Блок — 110	15,4	4,6	1,3		
Человек	Миллон, Фолин	Блок — 110	15,2	5,0	1,4		Артрит
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	12,2	5,5	2,1		Норм. диэта
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	11,6	6,1	1,8		Резервн. белок
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	14,4	5,5	1,7		Регенер. белок
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	12,7	5,9	1,9		Казеинов. диэта
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	12,2	5,9	1,9		Альбумин. диэта
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	14,1	5,8	1,7		Диэта на сыворотке
Собака	Миллон, Фолин	Мюрриль — 470	14,2	5,4	1,8		Дрожжевая диэта
Крупный рогатый скот	Миллон, Фолин	ф. Дезео — 192	(16,0)	4,7	1,8		
Среднее 2 × S. E.				5,4±±0,3	1,7±±0,1		

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в белках *патологической сыворотки и в моче человека*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Сыворотка	Миллон, Капеллер	Не опубликовано	14,1	5,0		6,0	миэлома
Сыворотка	Миллон, Фолин	Мюрриль — 469	14,3	5,6	1,7		нефрит
Моча	Выделение, Фишер	Абдергальден — 11	(16,0)	1,7		1,5	белок Бенс-Джонса
Моча	Миллон, Фолин	Девайн — 195	14,7	9,6	1,4		белок Бенс-Джонса
Моча	Спектрофотометрия	Девайн — 195	14,7	9,2	2,5		белок Бенс-Джонса
Моча	Миллон, Фолин	Колвери — 143	18,1	6,8	2,5		белок Бенс-Джонса
Моча	Миллон, Фолин	Фолин — 231	(16,0)	7,4	1,7		белок Бенс-Джонса
Моча	Выделение	Гопкинс — 308	16,2	4,2	0,8		белок Бенс-Джонса
Моча	Миллон, Фолин	Мюрриль — 469	15,1	5,2	0,9		нефрит

БЕЛКИ КРОВИ

Содержание ароматических аминокислот в белках *стромы и форменных элементах крови*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Лошадь	Миллон, Фолин	Бич — 55	12,9	3,6	1,4	
Лошадь	Миллон, Фолин	Джорпс — 344	14,8	3,7	1,7	
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	Бич — 55	13,8	3,4	1,4	
Крупный рог. скот (эмбрион)	Миллон, Фолин	Эриксон — 213	13,7	3,6	1,4	
Овца	Миллон, Фолин	Бич — 55	14,0	3,3	1,3	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Человек	Миллон, Фолин	Бич — 55	13,0	3,3	1,5	
Человек	Миллон, Фолин	Эриксон — 213	13,1	3,6	1,5 Polycythemia	
Боров	Миллон, Фолин	Бич — 55	13,1	3,4	1,5	
Среднее и 2 × S. E.				3,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	
Человек (клетки)	Фолин, Капеллер	Блок — 105	16,1		1,2	8,5

Белки крови

Фибрин. Хотя некоторые энзимы и вирусы, относительно мало доступные в чистом виде, содержат более высокое количество триптофана, чем фибрин, тем не менее фибрин крови является, повидимому, наилучшим источником для получения триптофана. Данные по содержанию тирозина, полученные Ханке, представляют интерес только как сравнительные, ибо они, повидимому, всегда очень низки.

Гемоглобины и глобины. Хотя содержание ароматических аминокислот в глобинах различных млекопитающих несколько отличается друг от друга (ср. Основные аминокислоты, гл. I), но в общем их содержание в глобинах млекопитающих сходно.

Серумальбумины. Сёренсен первый отчетливо показал, что состав препарата серумальбумина даже кристаллического зависит от метода его приготовления. Хьюитт [296] получил два препарата кристаллического серумальбумина, которые отличались друг от друга содержанием тирозина и в особенности триптофана. Серумальбумин, повидимому, содержит около 5% тирозина, 1% триптофана и 6—8% фенилаланина.

Серумглобулины. Эти вещества не кристаллизуются и, по всей вероятности, они еще более гетерогенны, чем серумальбумины. Однако, если рассматривать серумглобулины в целом, как группу белков, то они содержат примерно вдвое больше триптофана и несколько больше тирозина, чем серумальбумины.

Белки в патологии. Так называемый белок Бенс-Джонса не является однородным, а представляет, повидимому, группу белков, обладающих однозначными физическими свойствами, но различающихся по химическому составу и иммунологическим свойствам.

Белки стромы. Гидролизаты 5 белков стромы млекопитающих содержат примерно одинаковое количество тирозина и триптофана. У них почти или совсем не наблюдается специфических особенностей.

БЕЛКИ МОЗГА

Содержание ароматических аминокислот в белках *мозга человека*
(Ссылка 89 и неопубликованные результаты)

Высчитано на 16,0% азота

Причина смерти	Метод	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Инфекция	Миллон, Фолин	13,4	4,7	1,6		
Инфекция	Миллон, Фолин, Капеллер	14,1	4,1	0,7	6,8	
Инфекция	Миллон, Фолин	14,5	4,2	1,2		мужчина
Инфекция	Миллон, Фолин	14,3	4,1	1,3		мужчина
Инфекция	Миллон, Фолин	14,1	4,1	1,3		мужчина
Мозговое кровоизлияние	Миллон, Фолин, Капеллер	13,7	3,7	1,4	5,0	мужчина
Мозговое кровоизлияние	Миллон, Фолин, Капеллер	13,4	4,7	1,4	5,3	мужчина
Мозговое кровоизлияние	Миллон, Фолин, Капеллер	14,9	3,8	1,2	4,6	мужчина
Мозговое кровоизлияние	Миллон, Фолин, Капеллер	15,1	4,0	1,2	4,8	мужчина
Самоубийство	Миллон, Фолин, Капеллер	12,8	4,0	1,4	5,8	мужчина
Самоубийство	Миллон, Фолин, Капеллер	14,0	3,8	1,5	4,8	мужчина
Самоубийство	Миллон, Фолин, Капеллер	15,1	3,8	1,2	5,2	мужчина
Самоубийство	Миллон, Фолин, Капеллер	13,2	4,2	1,5	5,0	мужчина
Алкоголизм	Миллон, Фолин, Капеллер	14,9	3,9	1,4	5,6	мужчина
Артериосклероз	Миллон, Фолин, Капеллер	13,0	4,2	1,5	5,0	мужчина
Травма	Миллон, Фолин	13,0	4,1	1,5		
Амавротич. идиотизм	Миллон, Фолин, Капеллер	14,1	5,1	1,2	6,4	
Амавротич. идиотизм	Миллон-Лагг	14,1		1,1		
Мозговое кровоизлияние	Миллон, Фолин, Капеллер	14,2	3,7	1,2	4,0	женщина
Диабет	Миллон, Фолин, Капеллер	13,4	4,0	1,3	5,0	женщина
Инфекция	Миллон, Фолин, Капеллер	13,9	4,2	1,3	5,3	женщина

Продолжение

Причина смерти	Метод	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Алкоголизм	Миллон, Фолин, Капеллер	15,0	3,9	1,3	4,8	женщина
Артериосклероз	Миллон, Фолин, Капеллер	12,7	4,5	1,3	5,7	женщина
Артериосклероз	Миллон, Фолин, Капеллер	13,6	4,2	1,4	5,5	женщина
Неизвестна	Миллон, Фолин, Капеллер	15,6	4,3 *	1,5 *	4,1 *	
Среднее и 2 × S. E.		14,0	4,1± ±0,1	1,3± ±0,1	5,2± ±0,3	

* Капланский [354].

БЕЛКИ МОЗГА

Содержание ароматических аминокислот **в** *белках мозга различных животных* (ссылки 89, 105, 354 и неопубликованные данные)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Обезьяна	Миллон, Фолин, Капеллер	13,4	4,7	1,6	
Обезьяна, самец	Миллон, Фолин	14,3	3,8	1,1	5,1
Обезьяна, самец	Миллон, Фолин, Капеллер	14,4	4,1	1,1	4,3
Обезьяна, самец	Миллон, Фолин, Капеллер	14,9	3,9	1,1	4,1
Обезьяна, самец	Миллон, Фолин, Капеллер	13,9	4,0	1,4	5,4
Обезьяна, самец	Миллон, Фолин, Капеллер	14,6	4,2	1,2	4,0
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин, Капеллер	14,8	3,5	1,2	4,3
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин	14,2	4,0	1,1	
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин	14,5	3,7	1,0	
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин	14,6	3,9	1,2	
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин, Капеллер	15,1	4,1	1,1	3,8
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин, Капеллер	14,2	3,7	1,3	4,4
Обезьяна, самка	Миллон, Фолин, Капеллер	14,6	4,3	1,3	4,6
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	14,4	4,1	1,1	5,1
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	11,9	3,8	0,9	4,2
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	14,7	3,9	1,2	4,6
Баран	Капеллер	13,2			5,0

Продолжение

Источник	Метод	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Овца	Миллон, Фолин	12,5	4,6	1,4	
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	13,5	4,2	1,2	4,5
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	14,4	3,0	0,7	4,4
Баран	Миллон, Фолин, Капеллер	14,6	4,3	1,1	4,5
Овца	Миллон, Фолин, Капеллер	14,4	4,0	1,2	4,6
Овца	Миллон, Фолин, Капеллер	14,7	4,1	1,1	4,5
Овца	Миллон, Фолин	15,3	3,4	0,7	
Овца	Миллон, Фолин, Капеллер	13,0	4,1	1,2	5,0
Овца	Миллон, Фолин, Капеллер	15,0	4,0	1,1	5,1
Овца	Миллон, Род, Капеллер	15,2	4,6 *	1,6 *	4,1 *
Крыса, возраст 1 день	Миллон, Фолин, Капеллер	14,3	4,0	1,0	3,7
Крыса, возраст 6 дней	Миллон, Фолин, Капеллер	14,5	4,0	1,2	4,0
Крыса, возраст 22 дня	Миллон, Фолин, Капеллер	14,4	3,6	1,2	4,5
Крыса взрослая	Миллон, Фолин, Капеллер	14,7	3,8	1,2	5,3
Крыса взрослая	Миллон, Фолин, Капеллер	15,0	3,5	1,1	4,6
Крыса	Капеллер	15,2			4,2 *
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин, Капеллер	14,3	4,7	1,2	5,4
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	13,0	4,7	1,2	
Крупный рог. скот	Миллон, Фолин	14,7	4,8	1,2	
Крупный рог. скот	Миллон, Род, Капеллер	15,2	4,6 *	1,6 *	4,1 *
Свинья	Миллон, Фолин, Капеллер	15,3	3,7	1,3	4,9
Свинья	Миллон, Фолин, Капеллер	15,4	3,7	1,1	5,4
Кролик	Миллон, Род, Капеллер	15,1	4,8	1,6	4,1
Кролик	Миллон, Фолин	12,9	4,1	1,2	
Кролик	Миллон, Фолин	12,6	4,2	1,3	
Морская свинка	Миллон, Фолин	13,8	4,8	1,2	
Кошка	Миллон, Род, Капеллер	(15,2)	4,3 *	1,5 *	4,1 *
Собака	Миллон, Род, Капеллер	15,1	4,7 *	1,6 *	4,0 *
Мышь	Миллон, Род	14,9	4,8 *	1,5 *	
Цыпленок	Миллон, Род	15,3	4,6 *	1,5 *	
Лягушка	Миллон, Род, Капеллер	15,3	4,5 *	1,6 *	4,2 *
Рыба	Миллон, Род	14,9	4,7 *	1,6 *	
Среднее и 2 × S. E.			4,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	4,5 ± 0,2

* Капланский [354].

Белки мозга

Белки мозга млекопитающих, пресмыкающихся и рыб, повидимому, мало отличаются друг от друга по содержанию ароматических аминокислот. Несколько повышенные величины для триптофана и более низкие для фенилаланина, найденные Капланским, обусловливаются, вероятно, методами анализа. При определении фенилаланина Капланский пользовался первоначальным вариантом метода Капеллер-Адлер.

БЕЛКИ ЯЙЦА

Содержание ароматических аминокислот в кристаллическом яичном альбумине

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Капеллер [a]	Арноу — 37	15,1			5,6
Миллон, Фолин, Капеллер	Бернгарт — 73	15,3	4,1	1,2	5,6
Миллон- Лагг, Капеллер [б]	Не опубликовано	13,9	4,0	1,5	7,9
Миллон- Лагг	Бранд — 123	(14,9)	4,3	1,3	
Миллон, Фолин	Колвери — 139	(15,4)	4,4	1,3	
Миллон- Лагг	Чибнэлл — 160	15,8	4,2	1,3	
Миллон, Фолин	Фолин — 231	(15,4)	4,4	1,3	
Миллон, Фолин	Фолин — 231	(15,4)	4,2	1,4	
Миллон, Фолин	Фолин — 233	(15,4)	4,2	1,2	
Миллон, Фолин	Фолин — 233	(15,4)	4,1	1,2	
Вуазенэ	Фюрт — 249	(15,4)		1,9	
Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(15,4)	3,9		
Паули-Ханке	Ханке — 280	(15,4)	2,4 *		
Род-Мэй	Джонс — 342	(15,4)		2,4	

а 11 определений.

б Не вошло в расчет среднего.

* Некристаллический.

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Миллон, Фолин	Ханке — 281	(15,4)	3,7		
Род-Мэй	Мэй — 440	(15,4)		1,2	
Фолин	Мэй — 440	(15,4)		1,3	
Выделение, Фишер	Осборн — 497	15,5	1,8 *		5,3
Фолин	Поттингер — 527	(15,4)		1,3	
Миллон	Райтер — 544	(15,4)	3,9		
Род-Мэй	Томияма — 614	(15,4)		1,3	
Миллон	Цуверкалов — 699	(15,4)	4,6	1,3	
Вуазенэ и Род	Комм — 377	(15,4)		1,5	
Среднее и 2 × S. E.			4,2 ± ±0,1	1,4 ± ±0,2	6

* Не вошло в расчет среднего.

ПРОТЕИНЫ ЯЙЦА

Содержание ароматических аминокислот в *протеинах яйца* (кроме яичного альбумина)

Высчитано на 16,0% азота

Протеин	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кональбумин	Род-Мэй	Джонс — 342	(16,0)		5,0	
Вителлин	Выделение, Фишер	Абдергальден — 13	(15,0)	1,7		3,0
Вителлин	Миллон-Фолин	Колвери — 140	15,0	5,3 *	1,3	
Вителлин	Род-Мэй	Джонс — 342	(15,0)		2,6	
Вителлин	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(15,0)		1,5 *	
Вителлин	Род-Мэй	Мэй — 440	(15,0)		1,9	
Вителлин	Выделение, Фишер	Осборн — 495	16,3	3,3		2,5
Ливитин	Миллон, Фолин	Джонс — 348	15,5	6,3	1,3	1,8
Ливитин	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(15,0)		1,7 *	
Белок яйца	Миллон, Фолин	Колвери — 141	(15,0)	4,6		
Белок яйца	Миллон, Фолин	Фолин — 233	(15,0)	4,3	1,4	

* „Наиболее правильные данные“.

Продолжение

Протеин	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Белок яйца	Миллон-Вуазенэ	Мак-Фарлен — 448	15,2	5,4 *	1,5	
Белок яйца	Фолин	Мак-Фарлен — 448	15,2		1,4	
Белок яйца	Род-Мэй	Мак-Фарлен — 448	15,2		1,7	
Белок яйца	Капеллер	Виртанен — 663	12,1			5,5
Желток яйца	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	14,6	4,4	1,5	5,7
Желток яйца	Миллон-Фолин	Колвери — 141	(15,0)		1,7 *	
Желток яйца	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(15,0)		1,3	
Целое яйцо	Миллон-Вуазенэ	Мак-Фарлен — 448	14,3	5,6 *	1,7	
Желток яйца	Миллон-Вуазенэ	Мак-Фарлен — 448	14,3	5,6	1,7	
Целое яйцо	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	14,1	4,2	1,5 *	5,9
Целое яйцо	Миллон-Фолин	Паттон — 512	16,0	4,3 *	1,1	
Овомукоид	Фишер	Абдергальден — 5	(13,5)			5
Овомукоид	Миллон-Вуазенэ	Мак-Фарлен — 448	13,5	4,2	2,2	

* „Наиболее правильные данные".

Белки яйца

Яичный альбумин. Пользуясь казеином в качестве стандарта при определении триптофана, Джонс считал, что казеин содержит 2,4% триптофана. Этим объясняются высокие данные по триптофану в его опытах. Если принять, что казеин содержит 1,4% триптофана, то найденные Джонсом значения совпадают с остальными.

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ И КОРМА

Содержание ароматических аминокислот в кормах и пищевых продуктах

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Хлеб	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,2	4,6	1,5	5.3	
Хлеб	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,3	4,2	1,0	4,8	
Мука	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,8	3,8	0,8	5,5	5 образцов
Злаки *	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		3,0	1,5	5,6	Wheatena
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано		3,6	1,0		Wheatena
Злаки	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,3	3,5	1,2	5,5	Ralston
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано	12,3	3,5	0,8		Ralston
Злаки	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		3,5	2,4	4,1	Cream Farina
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано		3,4	1,0		Cream Farina
Злаки	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	13,6	3,6	2,0	5,6	Cream of Wheat
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано	13,6	3,5	0,8		Cream of Wheat
Злаки	Миллон, Капеллер	Не опубликовано		4,5		4,5	New Cream of Wheat
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано		4,0	1,4		New Cream of Wheat
Злаки	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		2,1	1,0	4,6	Puffed Sparkies
Злаки	Миллон-Лагг	Не опубликовано		1,9	0,5		Puffed Sparkies
Злаки	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		2,3	0,6	2,8	Cerevim
Соевая мука?		Гейнрих — 286	?	5,6		3,8	
Лупиновая мука?		Гейнрих — 286	?	5,6		4,5	
Мясные отходы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		3,2	0,6	4,5	
Мясные отходы	Миллон-Лагг	Не опубликовано			0,8		
Мясная мука	Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		2,9	1,3		

* Cereal.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Мясная мука	Паули, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		2,4	0,9	
Мясная мука	Пепсин, трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		3,0	1,0	
Мясная мука	Трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			1,8	
Мясные отходы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		2,7	0,8	6,0
	Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		3,0	0,7	
То же	Паули, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		2,7	0,6	
Рыбная мука (сельдь менхеден)	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,6	3,3	0,8	4,8
Рыбная мука	Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		2,6	1,3	
Рыбная мука	Паули, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		2,2	1,2	
Рыбная мука	Пепсин, трипсин, Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		2,9	1,4	
Рыбная мука	Пепсин, трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			1,6	
Рыбная мука (пикша)	Миллон, Фолин	Поттингер — 526		3,3	0,8	
Тресковая мука (печень)	Фолин	Мак-Фарлен — 447			2,0	
Тресковая мука (печень)	Паули, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		3,6	0,8	
Желатина рыбы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,8	0,8	0,9	1,9
Желатина рыбы	Миллон, Лагг	Не опубликовано	11,8	0,8	0,7	
Пахтанье	Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		5,5	1,8	
Пахтанье	Паули, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		5,3	1,5	
Пахтанье	Пепсин, трипсин, Миллон, Фолин	Мак-Фарлен — 447		6,4	1,3	
Пахтанье	Трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			1,7	
Пахтанье	Пепсин, трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			3,0	

Пищевые продукты и корма

Хлеб и мука. Превосходство хлеба, приготовленного с 6% содержанием сухого вещества молока и большим количеством дрожжей, обнаруживается по содержанию триптофана. Его содержание в хлебе значительно выше, чем в исследованных пяти образцах муки (white flours и farinas), которые широко используются.

Злаки. Повидимому, белки пшеницы, особенно если к ним добавлены зародыши пшеницы, содержат больше триптофана, чем те, которые подвергались чрезмерному нагреванию и давлению с последовательным быстрым снижением.

Эта серия анализов ясно показывает неспецифичность определения триптофана по методу Фолина с фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислотами. Для определения триптофана в препаратах белка, содержащих большое количество углеводов, следует предпочесть метод Миллона, видоизмененный Лаггом.

Мясные и рыбные остатки. Содержание триптофана в этих белковых концентратах ниже, чем обычно принято считать. Главное значение их в питании животных заключается скорее в возмещении лизина, чем триптофана (см. гл. I).

Сухое вещество молока. Сухое молоко является превосходным коммерческим источником триптофана.

ГОРМОНЫ И ЭНЗИМЫ ЖИВОТНЫХ

Содержание ароматических аминокислот в *гормонах и в энзимах, не содержащих металла*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	
Инсулин	Миллон-Лагг	Чибнэл — 160	15,5	12,9*		
Инсулин	Капеллер	Не опубликовано	15,5			8,4 [a]
Инсулин	Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(15,5)	13,1	0,0	
Инсулин	Миллон, Фолин	Енсен — 320	15,5	12		
Инсулин	Миллон, Фолин	Дю Виньо — 660	(15,7)	12,4		
Пепсин	Миллон, Фолин	Колвери — 146	15,4	10,8	2.3	
Пепсин	Миллон, Фолин	Колвери — 146	15,2	8,7	2,2	коагул. нагрев.
Пепсин	Миллон, Фолин	Колвери — 146	15,4	12,0	2,3	горячее фильтр.

[a] Фенилаланин.

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	
Тиреоглобул. человека	Миллон, Фолин	Каветт — 152	(16,0)	3,3	2,0	0,3[б], 0,3[в]
Тиреоглобул. коллоид	Миллон, Фолин	Каветт — 152	(16,0)	3,4	2,2	0,05[б], 0,0[в]
Тиреоглобул. adenoma	Миллон, Фолин	Каветт — 152	(16,0)	3,2	2,1	0,3[б], 0,1[в]
Тиреоглобул. Базед. болезнь	Миллон, Фолин	Каветт — 152	(16,0)	3,1	2,1	0,5[б], 0,2[в]
Тиреоглобул. свиньи	Миллон-Лагг	Бранд — 122	15,8	3,0	1,9	0,7[б], 0,3[в]
Тиреоглобул. поросенка	Миллон, Фолин	Экштайн — 202		5,5	2,2	
Химотрипсиноген	Миллон-Лагг	Бранд — 125	16,2	2,9	5,4	
Трипсин	Миллон-Лагг	Бранд — 127	(16,0)		4,6	
Трипсиноген	Миллон-Лагг	Бранд — 127	(16,0)		2,9	
Лактогенный гормон гипофиза	Миллон, Гопкинс	Ли — 419	(16,0)	5,7	2,5	бык
	Миллон-Лагг	Ли — 419	(16,0)		1,3	бык
	Миллон	Ли — 419	(16,0)	4,5		овца
Прессорный гормон гипофиза	Миллон-Арноу	Потс — 528	(16,0)	11,9		
Окситоческ. гормон гипофиза	Миллон-Арноу	Потс — 528	(16,0)	14,2		
Гонадотропин		Эванс — 214		7,0	1,5	
Секретин	Миллон-Лагг	Агрен — 25	14,4	0	0	

[б] Дииодтирозин.

[в] Тироксин.

Гормоны и энзимы животных

Инсулин. В инсулине поражает высокое содержание тирозина и отсутствие триптофана.

Пепсин. Этот белок также богат тирозином, но кроме того содержит относительно большое количество триптофана. Следует

отметить различия в аминокислотном составе пепсина в зависимости от метода приготовления препарата для анализа (коагуляция нагреванием).

Тиреоглобулин. Этот гормон характеризуется присутствием тироксина и дииодтирозина.

Химотрипсиноген. Этот энзим принадлежит к числу немногих белков, которые характеризуются обратным отношением тирозина к триптофану. Содержание в нем триптофана необычно высоко.

Прессорный и окситочеcкий гормоны задней доли гипофиза. Подобно пепсину и инсулину, эти белки содержат особенно большое количество тирозина.

КЕРАТИНЫ

Содержание ароматических аминокислот в *эукератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Волос человека	Миллон, Фолин	Блок — 109	16,6	2,9	1,3*	
Волос человека	Миллон, Капеллер	Блок — 97	15,4	3,1*		2,7
Шерсть ягненка	Выделение	Абдергальден — 16		2,8		
Шерсть ягненка	Миллон, Капеллер	Блок — 97	15,4	4,7		4,2*
Шерсть ягненка	Миллон, Фолин	Фолин — 231	(15,4)	5,9*	1,5*	
Шерсть ягненка	Гернгросс	Гернгросс — 256		5		
Шерсть ягненка	Миллон-Арноу	Гордон — 261	(15,4)	4,3		
Шерсть ягненка	Выделение, Мартин	Мартин — 439				3,6
Шерсть ягненка		Рёзерфорд — 560	(16,8)	5,5		
Шерсть ягненка	Хроматография	Гордон — 261*		5,8		1,5
Шерсть верблюда	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	15,1	3,3	0,8	4,3
Шерсть шимпанзе	Миллон, Фолин	Блок — 109	16,7	3,2	1,4*	
Щетина свиньи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,1	3,6	1,1	3,3

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Шерсть козла	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	16,2	3,0	0,9	4,5
Шерсть крупного рог. скота	Миллон, Фолин	Блок — 109	15,3	3,4*	1,4*	
Шерсть крупного рог. скота	Гернгросс	Гернгросс — 256		4		
Шерсть лошади	Выделение	Абдергальден — 9	(15,0)	3,4		
Рог крупного рог. скота	Выделение, Фишер	Абдергальден — 16		3,8		2,0
Рог крупного рог. скота	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	16,1	3,7		4,0
Рог крупного рог. скота	Миллон, Фолин,	Фолин — 231	(16,0)	5,3*	1,4*	
Рог носорога	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	15,6	8,8	1,7	5,1
Копыто свиньи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	14,8	6,5	1,3	3,7
Клюв эму	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	13,2	10,7	1,0	3,4
Клюв черной казарки	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	10,6	13,0	1,9	7,2
„Клюв“ игуана	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,5	7,0	0,8	4,9
Гусиные перья	Выделение	Абдергальден — 10	(15,0)	3,8		
Куриные перья	Миллон-Фолин, Капеллер	Блок — 97	15,5	2,3	0,7	5,5
? перья	Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(15,5)	3,3*		
Иглы дикобраза	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	15,8	3,3	0,9	3,6
Иглы ехидны	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 97	15,2	9,6	2,3	7,2
Подскорлуповая перепонка яйца	Миллон, Фолин	Колвери — 141	(16,6)	4,5*	2,7*	
	Миллон, Фолин	Колвери — 142	16,6	2,5	2,5	

* „Наиболее правильные данные“.

КЕРАТИНЫ

Содержание ароматических аминокислот в *коже и нейрокератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кожа человека	Миллон, Фолин	Экштайн — 203	14,2	3,9	2,0	
Кожа человека	Миллон, Фолин	Вилькерсон—678	15,1	6,0	1,6	
Кожа змеи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,2	5,5	1,0	4,1
Панцырки черепахи	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 96	14,1	14,9	2,6	5,9
Головной нарост пеликана	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 96	14,0	6,5	1,0	4,9
Китовый ус	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 96	14,1	5,7	1,1	3,2
Нейрокератин	Выделение	Арджирис — 32	14,2	5,2		
Нейрокератин	Миллон, Фолин, Капеллер	Блок — 96	13,3	4,6	1,3	5,2
Нейрокерат. — трипсин	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,1	5,1	1,8	7,2
Нейрокер. — пепсин	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	10,0	3,7	1,3	7,2
Нейрокер. — папаин	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	10,9	5,7	1,5	4,8

КЕРАТИНЫ

Содержание ароматических аминокислот в яйцевой оболочке, в кораллах Gorgonia, в фиброине шелка и т. д.

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Яйцевая оболочка (Scyllium)	Выделение, Фишер	Прегль — 529	15,1	11,2		3,5
Яйцевая оболочка (Salmon)	Миллон, Фолин	Юнг — 694	15,3	5,3	1,5	
Gorgonia (кораллы)	Миллон, Род, Капеллер	Блок — 96	14,1	14,8	?	6,5
Plexaurella (кораллы)	Миллон, Род, Капеллер	Блок — 96	13,7	15,8	?	7,6
Спонгин	Миллон, Род, Капеллер	Блок — 96	13,0	1,0	?	4,1
Фиброин шелка	Выделение + Фишер	Абдергальден — 20	19,0	9,3		1,3
Фиброин шелка	Выделение, спектрография	Бергман — 69	19,0	11,1		
Фиброин шелка	Миллон, Паули	Фюрт — 248	(19,0)	9		

Кератины

Эукератины. В отличие от поразительного единообразия молекулярных отношений основных аминокислот в эукератинах (см. гл. I) содержание в них ароматических аминокислот широко варьирует. Одни и те же исследователи приводят данные о содержании тирозина для различных эукератинов в пределах от 3 до 13%.

Кожа и нейрокератины. Нейрокератины и кожу относят к одному классу на основании их кератиновых свойств и вероятного эмбриологического происхождения из эктодермы. Эти белки относительно богаты ароматическими аминокислотами.

Горгонин. Горгонины из Gorgonia flabellum и Plexaurella dichotoma содержат относительно большие количества тирозина и фенилаланина, а триптофан в них, вероятно, отсутствует. Если же основываться только на определениях по методу Фолина с фосфорновольфрамово-фосфорномолибденовым реагентом, то содержание триптофана в горгонине G. flabellum окажется равным 6,1%, а в P. dichotoma — 5,4%.

Губки. Спонгин, который большинство учебников по зоологии еще относит к одному классу с фиброином шелка (на основании химического состава), является единственным белком среди кератинов, который отличается низким содержанием тирозина и отсутствием триптофана.

БЕЛКИ ПЕЧЕНИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках печени*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Бык	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	13,3	3,6	1,2	7,3
Бык	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,6	1,8	6,1
Крыса	Миллон, Фолин	Ли — 411		4,8	1,6	
Альбумин кошки	Миллон, Вуазенэ, Капеллер	Урбан — 625	15,4	4,4	3,0	4,4
Глобулин кошки	Миллон, Вуазенэ, Капеллер	Урбан — 625	14,8	3,5	2,9	4,7
Весь белок кошки	Миллон, Вуазенэ, Капеллер	Урбан — 625	15,0	3,7	2,9	4,6
Человек	Миллон, Капеллер	Блок — 105	13,6	3,4		7,3
Треска	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		3,8	1,4	5,8
Нуклеопротеин	Миллон-Лагг	Гринштейн — 266	15,7	3,9 ± 0,2	1,5 ± ± 0,2	
Опухоль	Миллон-Лагг	Гринштейн — 267	15,5	3,7	1,5	

Белки печени

Значительные расхождения между данными по триптофану, которые найдены Урбаном и другими авторами, зависят в основном от применения разных методов определения.

МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *металлсодержащих белках* (кроме гемоглобина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	
Цитохром С	Миллон-Лагг	Теорель — 605	15,4	5,6	1,2	
Гемоцианин	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	15,6	4,6	5,7	Моллюск
Гемоцианин	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,8	4,4	5,4	Crustacea
Гемэритрин	Миллон, Вуазенэ	Рош — 550	16,8	5,9	6,0	Siphuncle
Ферритин	Миллон, Вуазенэ, Капеллер	Кун — 396	8,4	12,2	1,8	1,8% фенилалан.

Металлсодержащие белки

К полученным по видоизмененному методу Вуазенэ высоким содержаниям триптофана следует в настоящее время относиться с осторожностью. Заслуживает внимания непропорционально высокое содержание тирозина в ферритине по сравнению с содержанием в нем других ароматических аминокислот.

Белки молока*

Казеин. Хотя некоторые колебания в приведенных аналитических данных обусловлены вариациями в составе самого белка, тем не менее большие расхождения в результатах (особенно для триптофана), вероятно, зависят от примененных методов.

Альдегидный метод Вуазенэ — Рода обычно дает вдвое большие значения для триптофана по сравнению с теми, которые получаются при определении по Фолину, Миллон-Лаггу и по другим методам. Этот факт вызвал целый ряд резких споров, в основном, бесплодных.

Повидимому, содержание тирозина в препаратах казеина, полученных из молока различных животных, сравнительно постоянно, а содержание триптофана значительно колеблется.

Другие белки молока. Лактальбумины женского и коровьего молока содержат больше триптофана, чем соответствующие казеины. Поэтому белки женского молока, несомненно, дают больше триптофана, чем вся сумма белков коровьего молока.

* Таблицы „Белки молока" см. ниже.

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание ароматических аминокислот в *казеине коровьего молока*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Гаррис	Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			1,8	
Шеффильд	Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			2,4	
Дезаминированный	Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			2,5	
Гидролизов. кислотой	Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			0,0 *	
	Миллон-Фолин	Бич — 55	15,1	6,6	1,5	
	Миллон-Фолин	Бич — 57	14,5	6,6 ± ± 0,1	1,2 ± ± 0,1	
Гаррис	Миллон-Фолин-Капеллер	Не опубликовано	14,8	5,6	1,3	6,3
Labco	Миллон-Капеллер	Не опубликовано	15,8	5,3		4,8
Labco, гидролизованный	Миллон-Лагг-Капеллер	Не опубликовано	12,2	5,2	?	5,6
Labco, гидролизованный	Миллон-Лагг-Капеллер	Не опубликовано	12,3	6,4	?	6.2
Difco, гидролизованный	Миллон-Лагг-Капеллер	Не опубликовано	7,4	0.4 *	?	4,3
Difco, гидролизованный	Миллон-Лагг-Капеллер	Не опубликовано	10,5	2,1 *	?	4,6
	Род-Мэй	Ксонка — 177	(15,4)		2,2	
	Миллон-Род-Мэй	Ксонка — 181		6,5	2,1	
	Дэкин, выделение	Дэкин — 183			1,7	
	Миллон-Фолин	ф. Дезео — 192	(15,4)	5,8	1,2	
Гаммарстен	Миллон-Фолин	Фолин — 231	(15,4)	5,6	1,6	
Гаммарстен	Миллон-Фолин	Фолин — 232	(15,4)	6,6	1,5	
Кон	Миллон-Фолин	Фолин — 232	(15,4)	6,8	1,5	
	Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(15,4)	7,0		
	Паули-Ханке	Ханке — 280	(15,4)	4,7		
	Миллон-Фолин	Ханке — 281	(15,4)	5,6		
	Миллон-Фолин	Холидэй — 302	(15,4)	6,2	1,2	
	Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(15,4)	7,3	1,0	
	Род-Мэй	Гольм — 303	(15,		2,3	
	Бромирование	Гомер — 305	(16,0)		1,3	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кон	Выделение	Гопкинс — 307	(16,0)		1,5	
	Род-Мэй	Джонс — 342	(15,4)		2,3	
	Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(15,4)			5,2
	Кольман	Кольман — 376	(15,4)			3,2 *
	Миллон-Фолин	Ковакс — 387	(15,4)	6,2	1,7	
	Вуазенэ-Краус	Краус — 388	(15,4)		1,3	
	Миллон-Капеллер	Кун — 393	(15,4)	9,0		5,0
	Миллон-Лагг	Лагг — 432	15,1	6,9	1,4	
	Род-Мэй	Мэй — 440	15,4		1,6	
	Фолин	Мэй — 440	(15,4)		1,6	
	Миллон-Фолин	Мак-Фарлен — 447		6,6	1,4	
	Паули-Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447		6,6	1,2	
	Вуазенэ и Род	Мак-Фарлен — 447			2,4	
	Пепсин — трипсин, Фолин	Мак-Фарлен — 447		7,6	1,5	
	Трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			1,3	
	Пепсин — трипсин, Вуазенэ	Мак-Фарлен — 447			1,7	
	Выделение	Онслоу — 484			1,0—1,5	
Английский	Онслоу	Онслоу — 485			2,0	
Мерк	Онслоу	Онслоу — 485			2,2	
	Выделение, Фишер	Осборн — 502	15,6	4,0 *		2,4 *
	Миллон-Фолин	Пламмер — 521	15,2	6,1	1,5	
	Бромирование	Пламмер — 522	(15,2)		1,6	
	Миллон-Фолин	Пламмер — 523	14,1	7,3	1,6	
	Фолин	Поттингер — 527	(15,4)		2,3	
	Выделение	Рич — 541		4,6 *		
	Вуазенэ-Род	Род — 545			2	
Свежий	Гопкинс-Шоу	Шоу — 576	15,4		1,4	
B. D. H.	Гопкинс-Шоу	Шоу — 576	15,4		1,1	
Кальбаум	Гопкинс-Шоу	Шоу — 576	15,4		1,0	
	Род-Мэй	Шоу — 577	15,4		2,5	

* Не включены в расчет средних.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кальбаум	Гопкинс-Шоу	Шоу — 577	(15,4)		1,4	
Гидролизов. баритом	Род-Мэй	Шоу — 577	(15,4)		1,4	
Гидролизов. баритом	Гопкинс-Шоу	Шоу — 577	(15,4)		1,2	
Казеин — стандарт	Род-Салливан	Салливан — 599	(15,4)		2,5	
Триптофан	Род-Салливан	Салливан — 599	(15,4)		1,3	
Стандарт	Род-Томас	Томас — 608	(15,4)		1,8	
		Тённис — 613	14,8		1,3	
	Род-Мэй	Томияма — 614	(15,4)		1,8	
	Миллон	Цуверкалов — 699	(15,4)	7,1		
Среднее и 2 × S. E.				6,4±±0,4	1,5±±0,1[a] 2,0±±0,3[б]	5,2±±0,5

[a] Разными методами (кроме Вуазенэ-Рода).
[б] Только методами Вуазенэ-Рода (12 определений).

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание ароматических аминокислот в казеине (кроме коровьего молока)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Человек	Выделение. Фишер	Абдергальден — 17	(15,5)	4,8		2,9
Человек	Миллон, Фолин	Бич — 55	15,1	6,6	1,5	
Человек	Миллон, Фолин	Плиммер — 521	14,4	6,1	1,2	
Человек	Бромирование	Плиммер — 522	14,4		1,1	
Овца	Миллон, Фолин	Ковакс — 387	(15,3)	6,2	1,7	
Коза	Миллон, Фолин	Ковакс — 387	(15,3)	5,0	1,5	
Лошадь	Миллон, Фолин	Ковакс — 387	(15,3)	5,6	1,2	
Осел	Миллон, Фолин	Ковакс — 387	(15,3)	4,8	0,9	

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание ароматических аминокислот в лактальбумине (белки сыворотки)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Корова	Джоллс-Альбанес	Альбанес — 28			2,8	
Корова	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	13,8	3,9	2,2	5,6
Корова	Миллон, Фолин	Бич — 57	14,2	5,3± ±0,1	2,0± ±0,1	
Корова	Род, Мэй	Джонс — 342	15,5		2,8	
Корова	Фишер	Джонс — 340	15,4			1,3
Корова	Род, Мэй	Мэй — 440	(15,5)		2,5	
Корова	Миллон, Фолин	Плиммер — 521	14,2	4,1	2,1	
Корова	Бромирование	Плиммер — 522	(14,2)		2,1	
Человек	Миллон, Фолин	Бич — 57	13,7	6,1± ±0,1	2,0± ±0,1	
Человек	Миллон, Фолин	Плиммер — 521	14,6	4,9	2,7	
Человек	Бромирование	Плиммер — 522	(14,6)		2,7	

БЕЛКИ МОЛОКА

Содержание ароматических аминокислот в белках молока (кроме казеина и лактальбумина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
β-Лактоглобулин	Миллон, Фолин, Капеллер	Боллинг — 112	15,5	4,6	1,8	5,3
β-Лактоглобулин	Миллон-Лагг	Боллинг — 112	15,5	4,3	2,0	
β-Лактоглобулин	Миллон-Лагг	Бранд — 128	15,6	3,9	2,0	
Цельное молоко	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		5,0		5,3
Цельное молоко	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	15,2	5,5	1,6	6,1
Цельное женское молоко	Миллон, Фолин Капеллер	Не опубликовано	15,2	5,5	1,9	5,9
Цельное женское молоко	Миллон-Лагг	Не опубликовано	15,2		1,9	

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание ароматических аминокислот в *белках мышц животных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	
Бык	Род-Мэй	Джонс — 342	(16,0)		1,3	
Бык	Выделение, Фишер	Осборн — 498	16,2	2,2		3,2[a]
Бык	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		0,9	
Бык	Миллон-Фолин-Капеллер	Не опубликовано	16,1	2,4	1,3	4,9[a]
Бык	Миллон-Фолин-Капеллер	Бич — 59		4,3[б]	1,4[б]	4,9[a]
Бык, миозин	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,6	3,2	0,8	
Крыса (нормальн. диэта)	Миллон-Вуазенэ	Рош — 548	15,8	3,0	1,8	
Крыса (голодная)	Миллон-Вуазенэ	Рош — 548	16,7	2,8	1,6	
Крыса (безбелк. диэта)	Миллон-Вуазенэ	Рош — 548	16,3	2,5	1,4	
Крыса	Миллон-Фолин	Ли — 411		4,4	1,2	
Миоген кролика	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,6	4,1	1,5	
Миозин кролика	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,7	3,2	0,8	2/3 всего белка
Глобулин кролика	Миллон-Фолин	Фолин — 233	(16,0)	3,9	1,6	неочищенный
Глобулин кролика	Миллон-Фолин	Фолин — 233	(16,0)	3,9	1,0	очищенный
Миозин кролика	Вуазенэ и Род	Комм — 377	(16,0)		1,5	
Миозин кролика	Фишер	Шарп — 575	16,8			3,8[a]
Кролик		Кондату — 349	(16,0)	4,3	1,8	1,8[a]

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	
Теленок	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,9 [б]	1,4 [б]	4,4 [а]
Ягненок	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,9 [б]	1,4 [в]	4,5 [а]
Свинья	Миллон-Лагг Капеллер	Бич — 59		4,4 [б]	1,3 [б]	4,0 [а]
Миозин собаки	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,6	3,2	0,7	
Миозин цыпленка	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,6	3,2	0,8	
Цыпленок	Выделение, Фишер	Осборн — 493	(16,0)	2,2		3,5 [а]
Цыпленок	Миллон-Фолин	Гуревич — 272	(16,0)	2,4—3,4	0,8—1,5	
Цыпленок	Род-Мэй	Томияма — 614	(16,0)		1,1	
Цыпленок	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,3 [б]	1,2 [б]	4,6 [а]
Хищная птица	Миллон-Фолин	Гуревич — 272	(16,0)	2,6	1,1	
Орел	Миллон-Фолин	Гуревич — 272	(16,0)	2,6	1,2	
Фазан	Миллон-Фолин	Гуревич — 272	(16,0)	2,5	1,0	
Попугай	Миллон-Фолин	Гуревич — 272	(16,0)	2,3	1,5	
Черепаха	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,6 [б]	1,4 [б]	4,3 [а]
Лягушка	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,7 [б]	1,4 [б]	4,7 [а]
Среднее и 2 × S. E.			16,0	3,1 ± ±0,3	1,2 ± ±0,2	4—5 [а]

[а] Процент фенилаланина.

[б] Не включены в расчет средних.

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание ароматических аминокислот в *белках мышц рыб*

Высчитано на 16,0% азота

Рыба	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Треска	Фишер, выделение	Абдергальден — 24	13,6	2,4	2,5	1,3
Треска	Миллон-Лагг-Капеллер	Бич — 59		4,5	1,3	4,3
Треска	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,1	
Сельдь амер. менхэден	Миллон-Фолин-Капеллер	Не опубликовано	11,6	3,3	1,0	4,8
Палтус	Выделение, Фишер	Осборн — 493	(16,0)	2,4		3,0
Палтус	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,6	
Сом	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,0	
Croaker (окунеобр.)	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Пикша	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		0,9	
Сельдь	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Crestivomer	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Скумбрия	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,4	
Кефаль	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,4	
Сардины (Pilchard)	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Red snapper (окунеобр.)	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Тунец (Tuna)	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Лосось	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Лосось	Миллон-Лагг	Бич — 59		4,4	1,4	4,5
Сельдь шэд	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,0	
Лосось проходной (Sea-Trout)	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,0	

Продолжение

Рыба	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Тунец Бонето (Boneto)	Род-Мэй	Томияма — 614	(16,0)		1,2	
Кит	Род-Мэй	Томияма — 614	(16,0)		1,2	
Сардины	Род-Мэй	Томияма — 614	(16,0)		1,4	
Миозин неизв. происх.	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,6	4,1	0,9	
Миозин неизв. происх.	Род-Мэй	Джонс — 342	(16,0)		1,3	
Среднее и 2 × S. E.				4 [a]	1,3±±0,1	4—5

[a] Вероятно.

БЕЛКИ МЫШЦ

Содержание ароматических аминокислот в белках *мышц ракообразных*

Высчитано на 16,0% азота

Виды	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Моллюск двустворч.	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Краб	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,1	
Миозин омара	Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	16,1	3,5	0,8	
Креветка	Миллон-Лагг, Капеллер	Бич — 59		4,7	1,2	4,8
Гребешок	Выделение, Фишер	Осборн — 496	17,1	1,8		4,6
Креветка	Фолин	Поттингер — 527	(16,0)		1,0	

Белки мышц

В белках мышц разнообразных видов животных не наблюдается колебаний в содержании ароматических аминокислот или эти колебания незначительны. Можно предположить, что белки мышц человека также содержат около 4% тирозина, 1% триптофана и 4% фенилаланина.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *автотрофных организмах (водоросли, папоротники и т. д.)*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Phormidium	Миллон, Фолин, выделение	Мэзур — 442	3,4	0,2	2,1
Ulva	Миллон, Фолин, выделение	Мэзур — 442	0,0	0,6	4,3
Laminaria	Миллон, Фолин, выделение	Мэзур — 442	3,9	1,3	1,9
Sargassum	Миллон, Фолин, выделение	Мэзур — 442	2,9	1,8	0,6
Gloetrichia	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,9	0,4	
Macrocystis	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	0,6	0,6	
Lessoniopsis	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,2	2,2	
Fucus	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,7	0,6	
Cystoseira	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,9	0,9	
Egregia	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,4	1,1	
Caulerpa	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	2,7	2,2	
Codium	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	1,0	0,5	
Chondrus *	Миллон, Фолин, выделение	Мэзур — 442	4,8	1,9	2,8
Diatoms	Миллон, Фолин	Мэзур — 443	0,4	7,3	
Pteridium	Миллон-Лагг	Лагг — 433А	4,3	1,3	

* Ирландский мох.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *биологически активных веществах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Грамицидин	Миллон, Фолин, Капеллер	Кристенсен — 162	14,6	0,0	38,6	0,0
Грамицидин	Род-Бейтс	Кристенсен — 162	14,6		36,7	
Грамицидин	Род-Мэй	Гочкис — 310	14,8		43,7	
Тироцидин	Миллон, Фолин, Капеллер	Кристенсен — 162	14,5	14,7	5,5	24,0
Тироцидин	Род-Бейтс	Кристенсен — 162	14,5		7,0	

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Тироцидин	Род-Мэй	Гочкис — 310	14,3		18,6	
Желтый фермент	Миллон, Вуазенэ, Капеллер	Кун — 393	16,3	7,7	4,8	5,6
Аллерген семян хлопка	Миллон, Гопкинс	Спайс — 585	19,8	1,4	0,0	
	Миллон, Гопкинс	Спайс — 585	20,2	1,4	0,0	
	Миллон, Гопкинс	Спайс — 585	11,6	1,8	0,0	
Кристаллич. из пшеницы		Боллс — 48	17,4	3,0		

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках зерен кукурузы* (*Zea mais*) (кроме зерна)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Кукуруза[a] белая	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		5,6	0,6	5,0
Кукуруза[a] белая	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 181		7,1	0,4	
Кукуруза[a] желтая	Миллон, Капеллер	Не опубликовано		5,5		4,0
Кукуруза[a] желтая	Миллон-Лагг	Не опубликовано			1,1	
Кукуруза[a] желтая	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 181		6,3	0,5	
Глютин белой кукурузы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	10,9	5,9	0,5	6,8
Глютин белой кукурузы	Миллон-Лагг	Не опубликовано	10,9	6,1	0,7	
Глютин желтой кукурузы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,7	6,7	0,7	6,4
Глютин, мука	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		7,1	1,5	6,7
Глютин	Род-Мэй	Мэй — 440	(16,0)		1,1	
Глютин, раствор. в NaOH	Выделение, Фишер	Осборн — 490	(16,0)	3,8		1,7
Глютелин	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 177	(16,0)	5,0	2,1	

[a] Цельное зерно.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Зародыш белой кукурузы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	11,8	4,3	1,3	5,6
Зародыш белой кукурузы	Миллон-Лагг	Не опубликовано	11,8	3,8	1,3	
Зародыш желтой кукурузы	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,8	6,7	1,3	5,5
Остатки после выделения зеина [б]	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	10,9	6,2	1,1	4,5
Альбумины желтой кукурузы	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	12,6	3,8	0,7	1,7
Отруби желтой кукурузы	Миллон-Лагг	Не опубликовано		10,8	1,0	

[б] Zein residue.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *эдестине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Фишер	Абдергальден — 1	18,6			2,1	
Выделение, Фишер	Абдергальден — 8	(18,6)			3,4	
Миллон-Лагг	Бэйлей — 44	18,4	3,7	1,3		
Миллон,Фолин	Бич — 55	17,1	3,9	1,2		
Миллон,Фолин	Фолин — 231	(18,6)	5,0	1,2		
Миллон,Фолин	Фолин — 232	(18,6)	3,9	1,3		
Миллон,Фолин	Фолин — 233	(18,6)	3,7	1,7		
Вуазенэ	Фюрт — 249	(18,6)		1,5		
Миллон-Фюрт	Фюрт — 250	(18,6)	3,7			
Миллон-Арноу	Гордон — 261		2,7			
Род-Мэй	Джонс — 342	(18,6)		2,2		
Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(18,6)			3,4	
Миллон- Вуазенэ	Кизель — 363	18,4	1,9	1,4		экстрагир. 10% NaCl
Миллон- Вуазенэ	Кизель — 363	18,4	1,9	1,1		экстрагир. 3% NaCl

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %	
Миллон, Вуазенэ	Кизель — 363	18,4	3,2	1,4		Коагуляция нагреванием
Миллон, Вуазенэ	Кизель — 363	18,4	3,3	0,9		Коагуляция нагреванием
Миллон, Вуазенэ	Кизель — 363	18,4	2,7	1,3		Горячее фильтр.
Миллон	Кизель — 363	18,4	2,6			Горячее фильтр.
Кольман	Кольман — 376	(18,6)			3,0	
Вуазенэ-Краус	Краус — 389	(18,6)		1,1		
Миллон-Лагг	Лагг — 432	18,5	3,7	1,3		
Род-Мэй	Мэй — 440	(18,6)		1,3		
Фолин	Мэй — 440	(18,6)		1,2		
Гопкинс-Шоу	Шоу — 577	(18,6)		1,1		
Род-Мэй	Шоу — 577	(18,6)		2,2		
Род-Мэй	Томияма — 614	(18,6)		1,3		
Миллон	Цуверкалов — 699	(18,6)	4,2			
Среднее и 2 × S. E.			3,3± ±0,4	1,4± ±0,1	>4	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *глиадине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Выделение, Фишер	Абдергальден — 7	(17,7)	2,2		2,4
Миллон, Фолин	Фолин — 231	(17,7)	3,2	1,0	
Миллон, Фолин	Фолин — 232	(17,7)	2,8	0,8	
Миллон, Фолин	Фолин — 233	(17,7)	3,0	0,7	
Паули-Ханке	Ханке — 280	(17,7)	2,1		
Миллон, Фолин	Холидэй — 302	(17,7)	2,8	0,9	
Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(17,7)	3,5	0,6	
Род-Мэй	Джонс — 342	(17,7)		0,8	
Вуазенэ-Краус	Краус — 389	(17,7)		0,5	
Род-Мэй	Мэй — 440	(17,7)		1,0	
Фолин	Мэй — 440	(17,7)		1,0	2,2
Выделение, Фишер	Осборн — 489	17,7	1,1 [a]		
Среднее и 2 × S. E.			2,8± ±0,4	0,8± ±0,1	

[a] Не включены в расчет средних.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках трав*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %
Ежа обыкнов.	Миллон-Лагг	Лагг 432	12,9	4,8	2,1
Ежа обыкнов.	Миллон-Лагг	Лагг 433		4,8	2,1
Канареечник	Миллон-Лагг	Лагг 432	15,4	5,0	2,0
Рожь	Миллон-Лагг	Лагг 432	13,6	4,8	2,0
Рожь	Миллон-Лагг	Лагг 433		4,9	2,2
Луговая	Миллон-Лагг	Лагг 432	14,0	4,8	2,1
Овсяница	Миллон-Лагг	Лагг 432	14,3	4,9	2,2
Гребенник	Миллон-Лагг	Лагг 432	14.1	4,9	2,3
Люцерна	Миллон-Лагг	Лагг 432	14,0	5,6	2,3
Лебеда	Миллон-Лагг	Лагг 432	12,1	5,3	2,0
Среднее и 2 × S. E.				5,0± ±0,2	2,1± ±0,1

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках листьев*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Люцерна (мука)	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	10,6	5,7	3,0	4,5
Люцерна (мука)	Миллон-Лагг	Не опубликовано	10,6		1,6	
Клевер красн.	Миллон-Лагг	Лагг — 432	12,8	5,2	2,0	
Клевер белый	Миллон-Лагг	Лагг — 432	13,1	5,2	2,2	
Фасоль многоцвет.	Миллон-Лагг	Лагг — 432	13,3	4,9	1,8	
Шпинат	Миллон-Лагг	Лагг — 432	14,1	5,4	1,9	
Ботва свеклы	Миллон-Лагг	Лагг — 432		5,3	2,4	
Среднее и 2 × S. E.				5,3± ±0,2	2,1± ±0,4	4—5

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках различных растений*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Семена хлопка—глобулин	Миллон-Фолин	Фолин —233	(18,6)	3,1	1,1	
Семена хлопка—глобулин	Миллон-Лагг, Капеллер	Фонтэн —238	16,9	3,4 *	1,3 *	7,8
Семена хлопка—глобулин	Миллон-Лагг, Капеллер	Фонтэн —238	17,9	2,9	1,3	8,1 *
Семена хлопка—глобулин	Род-Мэй	Джонс —342	(18,6)		2,2	
Семена хлопка—глобулин	Выделение, Фишер	Абдергальден — 6	(18,6)	2,0		3,4
Семена хлопка—мука	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		3,2	1,3	6,8
Льняная мука (из высуш. семян)	Миллон-Фолин, Капеллер	Не опубликовано		5,1	3,0	5,6
Льняная мука (из высуш. семян)	Миллон-Лагг	Не опубликовано		5,1	1,9 *	
Земляной орех, арахин	Миллон-Капеллер	Не опубликовано	17,0	4,1		5,5
Земляной орех, арахин	Фолин-Денис	Джонс —322	18,3	4,8		
Земляной орех, арахин	Род-Мэй	Джонс —342	(18,3)		0,8	
Земляной орех, мука	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		4,4	1,0	5,4
Соевая мука (?)	Миллон-Лагг, Капеллер	Гейнрих —286	?	5,6		3,6
Соевая мука	Миллон-Фолин, Капеллер	Не опубликовано		4,1 *	1,6	5,7
Глицинин сои	Род-Мэй	Джонс —342	(17,5)		1,6	
Глицинин сои	Миллон-Вуазенэ	Кизель —362	17,5	1,8	1,6	
Глицинин сои	Род-Мэй	Мэй 440	(17,5)		1,5 *	
Белок сои	Род-Мэй	Томияма —614	(16,0)		1,3	
Бобы клещевины — рицин	Выделение, Вуазенэ	Каррер —355	(17,0)	2,7	0,4	
Гордеин ячменя	Выделение	Кляйншмит —369	17,2	3,7		5,1
Гордеин ячменя	Вуазенэ-Краус	Краус —389	(17,2)		0,6	
Легумин гороха	Кольман	Кольман —376	(17,0)			4,6

* Наиболее правильные данные.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Глобулин семян тыквы фигурной	Вуазенэ-Краус	Краус — 389	(17,0)		1,8	
Глобулин семян тыквы	Миллон-Фолин	Викери — 657	18,5	3,8	1,5	
Латекс	Миллон-Лагг	Тристрам — 620	15,0	6,7	1,4	
Льняная мука	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		3,9	1,6	6,0
Лупиновая мука?		Гейнрих — 286	?	5,6		4,5
Овсяная мука	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано		4,5	1,3	7,2
Рис (cereal)	Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано			1,3	6,3

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках овса и риса*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Тирозин, %	Триптофан, %
		Белки овса		
Цельный — Rockland	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 182	12,0	0,3
Цельный (технич.)	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 182	7,4	0,4
Вальцованный	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 182	2,9	1,5
Среднего качества	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 182	4,7	
Высевки	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 182	6,7	
Глютелин	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 177	4,4	1,9
		Белки риса		
Цельный	Род-Мэй	Кик — 364		1,0
Полированный	Род-Мэй	Кик — 364		1,0
Зародыш	Род-Мэй	Кик — 364		0,7
Полированный (polishinug)	Род-Мэй	Кик — 364		0,9
Арканзас 155	Род-Мэй	Кик — 364		0,7
Shoemed	Род-Мэй	Кик — 364		1,1
Аркадия	Род-Мэй	Кик — 364		1,1
Зенит	Род-Мэй	Кик — 364		0,9
Фортуна	Род-Мэй	Кик — 364		1,1
Глютелин	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 177	5,8	1,8

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *вирусах*

Высчитано на 16,0% азота

Белки	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Virus-Tobacco-Mosaic	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,8	4,5	6,0
Virus-Tobacco-Mosaic	Миллон-Лагг-Капеллер	Росс — 556	(16,0)	3,9	2,0	6,3
Virus-Tobacco-Mosaic	Гопкинс-Шоу	Росс — 556	(16,0)		4,5	
Virus-Tobacco-Mosaic	Миллон, Гопкинс	Росс — 557	15,9	4,3	4,9	6,7
Virus-Jellow-Ancuba	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,9	4,2	6,3
Virus-green-Ancuba	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,9	4,2	6,1
Virus-Holme's ribgrass	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	6,4	3,5	4,3
Virus-Holme's mashed	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,9	4,3	6,1
Virus-J14D1	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,8	4,4	6,1
Virus-Cucumber 4	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	3,8	1,4	10,2
Virus-Cucumber 3	Миллон, Гопкинс, Капеллер	Найт — 370	(16,0)	4,0	1,5	10,0

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках пшеницы* (кроме глиадина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Пшеница цельная	Миллон, Капеллер	Не опубликовано		4,8		5,7
Пшеница цельная	Миллон-Лагг	Не опубликовано		3,9	1,2	
Пшеница твердая	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 179		4,2	0,4	
Пшеница твердая	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 179		3,5	0,4	
Пшеница мягкая	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 179		2,8	0,5	

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Пшеничная мука	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	12,8	3,8	0,8	5,5
Мука твердой пшен.	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 180		2,5	1,3	
Мука твердой пшен.	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 180		3,7	1,4	
Глютин пшеницы		Падоа — 508	?	1,3	1,2	4,1
Глютелин	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 177	(16,0)	5,4	2,1	
Глютенин	Миллон, Фолин	Фолин — 231	(16,0)	4,6	1,7	
Глютенин	Род-Мэй	Джонс — 342	(17,5)		1,6	
Глютенин	Род-Мэй	Мэй — 440	(17,5)		1,6	
Глютенин	Фолин	Мэй — 440	(17,5)		1,5	
Глютенин	Выделение, Фишер	Осборн — 489	17,5	3,9		1,8
Зародыш	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		3,8	1,0	4,2
Зародыш-лейкозин	Выделение, Фишер	Осборн — 489	16,8	3,1		3,6
Отруби	Род-Мэй	Джонс — 342	(16,0)		4,8	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *белках дрожжей и плесеней*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Пивные дрожжи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		4,0	1,4	3,5
Пивные дрожжи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано	14,4	3,6	0,9	4,3
Пивные дрожжи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		4,5	0,8	4,5
Пивные дрожжи	Миллон, Фолин, Капеллер	Не опубликовано		4,8	1,1	4,1
Пивные дрожжи, раств. в воде	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	15,3	4,3	2,8	
Пивные дрожжи, раств. в NaCl	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	16,2	3,8	2,5	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Пивные дрожжи, раств. в NaOH	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	16,4	3,8	1,6	
Хлебные дрожжи	Миллон, Фолин-Капеллер	Не опубликовано		4,2	1,1	3,9
Хлебн. дрожжи, раств. в воде	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	15,6	4,9	2,7	
Хлебн. дрожжи, раств. в NaCl	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	16,2	4,2	3,0	
Хлебн. дрожжи, раств. в NaOH	Миллон, Род-Мэй	Ксонка — 178	14,8	3,4	1,9	
Сухие дрожжи, раств. в воде (steep water)	Миллон, Капеллер	Не опубликовано		4,9		4,1
Плесень Aspergillus	Выделение	Уллей — 689	5,15	1,3 *	0,1 *	0 *
Среднее и 2 × S. E.				4,2± ±0,2	1,8± ±0,5	4,1

* Не вошли в расчет среднего.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Содержание ароматических аминокислот в *зеине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Выделение	Бразье — 129	17,5	2,4*		6,9
Выделение	Дэкин — 186	16,1			7,6
Фолин	Фолин — 232	(16,1)		0,2	
Миллон, Фолин	Фолин — 233	(16,1)	5,9	0,2	
Паули-Ханке	Ханке — 280	(16,1)	3,6		
Спектрофотометрия	Холидэй — 302	(16,1)	8		5,0
Капеллер-Адлер	Капеллер — 350	(16,1)			6,5
Кольман	Кольман — 376	(16,1)		0,2	
Вуазенэ-Краус	Краус — 388	(16,1)	5,4		
Пуше-Аримо	Лен — 398	(16,1)		0,0	
Род-Мэй	Мэй — 440	(16,1)		0,0	
Фолин	Мэй — 440	(16,1)	3,6		4,9
Выделение, Фишер	Осборн — 490	16,1	3,6		6,6
Выделение, Фишер	Осборн — 499	16,1			7,5
Капеллер-Адлер	Виртанен — 663	14,5	5,2	0,1	6,4
Миллон-Лагг, Капеллер	Не опубликовано	15,4		0,1	
Среднее и 2 × S. E.			5,0± ±1,2		6,4± ±0,7

* Не вошло в расчет среднего.

Растительные белки

Автотрофные организмы. Определения тирозина и триптофана были проведены Мэзуром и Кларком [442, 443] в целых обезжиренных организмах. Проведение опыта: 50 *г* Sargassum суспендируют в 500 *мл* 10% раствора гидроокиси бария и нагревают на паровой бане 4 дня. Барий удаляют и концентрируют раствор до 100 *мл*. После обработки 20-*мл* аликвотного раствора каолином раствор содержал 1,32 *мг* азота тирозина и 1,39 *мг* азота триптофана, что соответствует приблизительно 0,17% тирозина и 0,1% триптофана в сухом веществе Sargassum.

Гомер [305] и Онслоу [483] показали, что триптофан разрушается при длительном нагревании с баритом, в особенности в присутствии некоторых неорганических солей. Фиживара и Катаока [254] и Шилд и Эндерс [566] нашли, что метод определения триптофана по Фолину с фосфорномолибденовольфрамовой кислотой дает надежные результаты только с очищенными препаратами белков и аминокислотными смесями. Вью [698] нашел, что закисная медь в разведении 1 : 5 000 000 может восстановить фенольный реагент Фолина, а Герриотт [289] установил, что небольшие количества иона окисной меди могут сильно увеличивать интенсивность синей окраски, вызываемой рядом веществ, которые могут встречаться в гидролизатах сильно загрязненных препаратов белка. Тем не менее Мэзур и Кларк [442] пишут: «Аналитический метод, применявшийся в этом исследовании, обеспечивает надежные результаты для тирозина и триптофана». Весьма вероятно, что приведенные в таблице данные (особенно по триптофану) являются результатом взаимодействия ряда посторонних веществ; некоторые из них могут разрушить триптофан, другие могут восстановить реактив Фолина, и это обусловливает «повышенные результаты». Если бы результаты авторов были правильными, то белок ($N \times 6{,}25$) диатомовых водорослей оказался бы наиболее ценным промышленным источником для получения триптофана, особенно в качестве корма для животных. Данные, приводимые Лаггом [434А], вероятно, близки к истине.

Биологически активные вещества. Заслуживают внимания высокое содержание триптофана и отсутствие тирозина в грамицидине (полипептид из бактерий). Тироцидин содержит значительное количество тирозина, которое равно или превышает содержание в нем триптофана.

Следует отметить, что при определении триптофана в, повидимому, идентичных хорошо очищенных препаратах протеиноподобных веществ два исследователя получили разные результаты. Они пользовались для определения методами, представлявшими незначительные изменения реакции Вуазенэ — Рода.

Белки кукурузы (кроме зеина). Большинство белков кукурузы представляет, повидимому, хороший источник для получения

тирозина и фенилаланина, но, за исключением белков зародыша, они несколько беднее триптофаном. Меньше всего триптофана содержат глютин и альбумины кукурузы (steep water proteins), тогда как белки зародышей и глютин, не содержащий зеина (zein residue), могут, повидимому, представлять неплохой источник для получения этих необходимых аминокислот. Высокое содержание тирозина, найденное в белках отрубей кукурузы, нуждается в подтверждении.

Эдестин. Особый интерес представляют данные о влиянии коагуляции нагреванием на содержание тирозина в белках (опыты Кизеля). Коагуляция белков нагреванием обычно применяется при подготовке белков для анализа. Указанные выше опыты и исследования Колвери над пепсином показывают, что приготовленные этим методом препараты белка могут несколько отличаться по своему составу от природного кристаллического вещества.

Белки трав и зеленых листьев. В отличие от большинства белков эндоспермы эти тканевые белки являются, повидимому, хорошим источником для получения триптофана.

Белки семян. Глобулин хлопкового семени, льняная (из высушенного льняного семени) и соевая мука, глобулин семени фигурной тыквы, семян тыквы и льняной муки (из натурального льняного семени) содержат больше триптофана, чем белки пшеницы и кукурузы. Основной белок земляного ореха — арахин, — вероятно, совсем не содержит триптофана.

Белки овса и риса. Эти белки, повидимому, содержат больше триптофана, чем пшеница и кукуруза. Данные Ксонки по содержанию тирозина в белках овса требуют еще подтверждения.

Вирусы. Целый ряд растительных вирусов отличается необычайно высоким содержанием тирозина и триптофана (определено по методу Гопкинса — Коле, видоизмененному Шоу и Мак-Фарленом). Заслуживает внимания высокое содержание фенилаланина в вирусе огурца.

Белки пшеницы (кроме глиадина). Белки пшеницы не отличаются особенно высоким содержанием ароматических аминокислот. Многие из них бедны триптофаном. Повышенное содержание триптофана, установленное в отрубях пшеницы, заслуживает дальнейшего изучения.

Дрожжевые белки. Повидимому, количество тирозина и фенилаланина в белках дрожжей относительно постоянно. Но вопрос о содержании в них триптофана требует еще дальнейшего изучения. Содержание этой аминокислоты колеблется, вероятно, в пределах 1—2%.

Зеин. Давно установлено, что в этом белке нет триптофана или его содержание очень мало. Зеин относительно богат тирозином и фенилаланином.

БЕЛКИ ТКАНЕЙ

Содержание ароматических аминокислот в *белках различных тканей и органов крупного рогатого скота*

(неопубликованные опыты)

Высчитано на 16,0% азота

Орган	Метод	Азот, %	Тирозин, %	Триптофан, %	Фенилаланин, %
Почки	Миллон-Лагг, Капеллер	15,6	3,2	1,2	5,5
Почки [а]	Миллон, Фолин		4,8	1,7	
Почки [б]	Миллон-Лагг, Капеллер		4,6	1,8	5,5
Легкие	Миллон-Лагг, Капеллер	15,3	2,7	0,8	4,7
Легкие [б]	Миллон-Лагг, Капеллер		3,8	1,8	4,1
Панкреас	Миллон-Лагг, Капеллер	15,5	3,0	1,4	4,4
Слюнные железы	Миллон-Лагг, Капеллер	15,7	2,6	0,8	3,6
Селезенка	Миллон-Лагг, Капеллер	15,7	2,9	0,8	4,6
Тимус	Миллон-Лагг, Капеллер	15,4	2,5	0,6	3,3
Яичники	Миллон-Лагг, Капеллер	15,8	2,6	0,7	4,8
Семенники	Миллон-Лагг, Капеллер	15,4	3,1	1,0	5,5
Сердце	Миллон-Лагг, Капеллер	14,8	3,4	1,1	5,7
Сердце [а]	Миллон-Лагг, Капеллер		4,4	1,4	5,1
Мочевой пузырь	Миллон-Лагг, Капеллер	15,9	2,9	0,6	3,5
Кишечник	Миллон-Лагг, Капеллер	15,3	3,3	0,7	4,8
Надпочечники	Миллон-Лагг	15,9	3,7	1,1	
Желудок [б]	Миллон-Лагг, Капеллер		3,7	1,0	3,3

[а] Ли [411].
[б] Бич [59].

Белки тканей

Относительно низкое содержание триптофана в большинстве тканей желез не вызвано, повидимому, ошибкой эксперимента, ибо аналогичные результаты получены и по методу Фолина. Оно, вероятно, связано с количеством альбуминоидов и нуклеопротеидов, содержащихся в этих органах. На основании проведенных недавно исследований Мирский [461] полагает, что «чистые» нуклеопротеиды совсем не содержат триптофана.

Глава III

СЕРУСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ:

цистин, цистеин и метионин

(рекомендуемые методы отмечены звездочкой)

	Цистин	Цистеин	Метионин
Эмпирическая формула . . .	$C_6H_{12}O_4N_2S_2$	$C_3H_7O_2NS$	$C_5H_{11}O_2NS$
Оптическая форма	*l*	*l*	*l*
Молекулярный вес	240,23	121,12	149,15
Углерод	29,97		40,23
Водород	5,03		7,13
Азот	11,66		9,39
Кислород	26,64		21,45
Сера	26,69		21,50
Точка плавления	256°—258° (разлож.)		283° (неиспр.)

Раздел 1

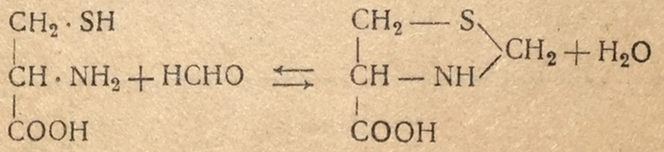
ГИДРОЛИЗ

Цистин и цистеин. Разрушающее действие щелочи на цистин и цистеин настолько велико, что оно лишает по существу возможности пользоваться щелочным гидролизом белка при определении обоих аминокислот.

Кислоты по-разному действуют на цистин и цистеин. Боллинг и Блок [112] нашли, что при гидролизе β-лактоглобулина в течение 20 час. с 10 объемами смеси 18% соляной кислоты и 90% муравьиной кислоты (1 : 1) цистин не разрушается. Для определения цистина авторы пользовались специфической реакцией Флеминга — Васселя с *n*-фенилендиамином и неспецифической реакцией Фолина с фосфорно-18-вольфрамовой кислотой.

Пользуясь видоизмененным методом Фолина, Лагг [428] установил, что при гидролизе соляной кислотой в отсутствие углеводов цистин почти совсем не разрушается, а цистеин изменяется очень слабо. В присутствии небольших количеств углеводов цистин разрушается на 6—7%, а цистеин — на 85—100%. Если содержание углеводов относительно велико, то и цистин разрушается в значительной степени.

Разрушающее действие продуктов распада углеводов на цистеин и цистин можно до некоторой степени объяснить образованием производных тиазолидинкарбоновой кислоты. Ратнер и Кларк [450] показали, что формальдегид образует с цистеином тиазолидин-4-карбоновую кислоту



Поллард и Чибнэл [524] производили гидролиз белка трав, применяя 20% HCl (в течение ночи) и пепсин, трипсин и эрепсин. Выходы цистина, определенного очень специфическим методом Салливана, были вполне сравнимы. Однако после 20 час. гидролиза с 8 н. H_2SO_4 обнаруживается только 84% ожидаемого цистина.

Пользуясь видоизмененным методом Фолина и Салливана, Бэйлей [43] нашел, что добавленный к эдестину цистин определяется на 99±2%. Однако *абсолютные* количества определяемого цистина оказались непостоянными. Это указывает на то, что часть цистина, связанная в пептиде, может разрушаться быстрее. Бэйлей отмечает, что при гидролизе 5 н. HCl в течение 15 час. может теряться 30% цистина и 20% метионина; Миллер и дю-Виньо [455] нашли, что при гидролизе инсулина (белка, не содержащего углеводов) равной смесью концентрированной HCl и муравьиной кислоты в течение 48 час. цистин почти или совсем не разрушается. Но если гидролиз проводится в течение того же времени, но с одной 20% соляной кислотой, то наблюдается значительное разрушение цистина. Следует, однако, подчеркнуть, что 6—8-часовой гидролиз белка 18—20% соляной кислотой оказался совершенно адэкватным для всех препаратов белка, которые нами исследовались.

Целый ряд исследователей получил аномально высокие значения для цистина. Определение проводилось по первоначальному варианту метода Фолина в дезаминированных или частично гидролизованных белках или в препаратах, гидролизованных в присутствии больших количеств углеводов. Поэтому к полученным таким образом данным следует относиться с большой осторожностью.

Олвинг и Мирский [30] сделали интересное наблюдение: если гидролизовать белок (серумальбумин, серумглобулин) серной кислотой разной концентрации (от 6 до 11 н.), то содержание «цистина» в белке, определенное по Фолину, растет с увеличением концентрации кислоты.

Анализируя казеин, яичный альбумин и белки яичного желтка, Мак-Фарлен, Фульмер и Джюкс [448] нашли, что коли-

чество найденного цистина после гидролиза трипсином примерно на 20% выше, чем после гидролиза серной кислотой. Для определения авторы пользовались фосфорно-18-вольфрамовой кислотой (метод Фолина).

Лагг [431] гидролизовал белок в течение 6—8 час. избытком 57% иодистоводородной кислоты в атмосфере азота. В этой восстанавливающей среде потери цистина были минимальными. Если бы не некоторые технические затруднения, то иодистоводородная кислота, вероятно, являлась бы наилучшим гидролизующим средством, особенно в тех случаях, когда препараты белка содержат примеси углеводов или им подобных соединений. В случае чистых препаратов белка нет необходимости пользоваться иодистоводородной кислотой.

Наиболее обстоятельными исследованиями по распаду цистина во время гидролиза являются, вероятно, исследования Салливана, Гесса и их сотрудников. Салливан, Гесс и Смит [600] нашли, что при гидролизе инсулина 20% соляной кислотой определяется несколько меньше цистина, чем при нагревании с 20% соляной в 90% муравьиной кислоте (время гидролиза — 12 час., нагревание на масляной бане при 125—135°). Они подчеркивают, что если гидролизаты хранятся в течение некоторого времени, то наблюдается значительное уменьшение количества цистина, определяемого полярографическим методом по Брдичка или колориметрическим методом по Салливану.

Гесс, Салливан и Полмс [294] изучали потери цистина при гидролизе белков, содержащих углеводы (вирус табачной мозаики). Авторы определяли цистин колориметрическим методом Салливана и титровали иодом по Мёрнер — Окуда. Результаты сведены в таблице.

Гидролизующий агент	Время нагрева, час.	Цистин, %: колориметрическое определение	Цистин, %: определение титрованием
20% HCl	6	0,47	0,48
20% HCl в муравьиной кислоте	24	0,53	0,48
6 н. H_2SO_4 в атм. N_2	12	0,67	0,71
20% HCl + 1% $TiCl_2$	2	0,64	0,64
57% HI в атм. N_2	18	0,73	0,70
Конц. HI — HCOOH в атм. N_2	24	0,69	0,69

Из этих опытов становится вполне очевидной роль сильных восстановителей, тормозящих образование гуминов во время гидролиза.

Метионин. По Бэйлей [43], потери метионина при гидролизе белка в присутствии больших количеств углеводов могут достигать 20%. О потерях, происходящих при деметилировании метионина иодистоводородной кислотой, будет сказано ниже.

Раздел 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТИНА И ЦИСТЕИНА

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТИНА ПО ЛАБИЛЬНОЙ СЕРЕ В БЕЛКАХ (ШУЛЬЦ)

История вопроса. В 1838 г. Г. Ж. Мульдер [467] впервые показал, что при нагревании белка со щелочами и солями тяжелых металлов образуются сернистые соли. 10 лет спустя Флейтман [226] обратил внимание на то, что в этих условиях не вся сера выпадает в виде сернистых металлов. Это наблюдение заставило предположить, что сера содержится в белке по крайней мере в двух формах.

Целый ряд других исследователей также изучал вопрос о сере в белке, неустойчивой к щелочам. Так, Шульц [573] нашел, что если нагревать цистин или цистеин в течение 10—25 час. с избытком цинковых опилок и 30% раствором NaOH в присутствии уксуснокислого свинца или окиси висмута, то после подкисления раствора уксусной кислотой по Флейтману половину всей серы белка можно обнаружить в осадке.

Эти результаты обычно служили доказательством того, что только половина всей серы, содержащейся в цистеине, лабильна в щелочных растворах. Несмотря на то, что в осадке можно было обнаружить только 52—54% всей серы цистина и цистеина, Шульц писал: «После отщепления половины серы другая половина остается в такой форме, что ее легко выделить в виде сероводорода при действии кислоты».

А. РЕАКЦИЯ ШУЛЬЦА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ КЛАРКОМ [164, 695, 111]

Основы метода. Цистин восстанавливают до цистеина цинком в кислой среде. Затем добавляют избыток уксуснокислого свинца и едкого натра. После продолжительного нагревания вся сера из цистеина выделяется в виде сернистого свинца.

Метод. К 5 *мл* белкового гидролизата, содержащего 0,5—1,0 *мг* серы цистина, добавляют цинковые опилки в 4—6-кратном количестве против теоретического и 1 *мл* 1 н. HCl. Нагревают на водяной бане до растворения цинка. Затем добавляют 0,2 *мл* 10% раствора уксуснокислого свинца и 2 *мл* 20% раствора NaOH. Раствор запаивают в трубку и нагревают при

90—95° в течение 24 час. или дольше. Реакционную смесь центрифугируют, сливают раствор и, если необходимо, повторяют нагревание с уксуснокислым свинцом и щелочью. Осадок PbS промывают 1% раствором NaOH. Сернистый свинец окисляют до сульфата SO_4^{++}, добавляя последовательно 500 *мг* $KClO_3$ и 4—5 *мл* холодного раствора брома (10 *мл* брома растворяют в 150 *мл* концентрированной HCl и разбавляют 100 *мл* воды). Перемешивают до исчезновения черного осадка PbS. Затем добавляют 1—2 *мл* концентрированной HCl, нагревают на паровой бане для полного удаления хлора и упаривают досуха. Для удаления SiO_2 остаток экстрагируют дважды 20 *мл* горячей 20% соляной кислоты. Вытяжки упаривают досуха. Остаток растворяют в 50 *мл* 0,1 н. HCl и осаждают сульфат хлористым барием, как обычно.

Примечание. Несмотря на то, что Шульц [573] установил, что только половина всей серы цистеина осаждается в условиях его опыта, сравнение его результатов по «отщепляемой сере» с данными по цистину в серумальбумине лошади, серумглобулине, кристаллическом оксигемоглобине лошади и других белках весьма показательно.

Белок	Цистин, опред. по лабильной сере (Шульц), %	Цистин, современные литературн. данные, %
Серумальбумин	4,8	5,0±0,3
Серумглобулин	2,4	2,5±0,3
Оксигемоглобин (лошадь)	0,7	0,7
Глобин	0,8	0,8
Яичный альбумин	1,8	1,8

Таким образом, метод Шульца (определение цистина цинком и щелочным раствором свинца), опубликованный в 1898 г., можно, повидимому, считать первым количественным методом определения аминокислот в белках. Этот метод был действительно опубликован за год до выделения из белка цистина Мёрнер и Эмбденом.

Авторы полагают, что разложение цистина до сульфида по Шульцу можно использовать для колориметрического определения цистина. Выделяющийся при подкислении сероводород дает с диметилфенилендиамином метиленовый голубой. Этот метод может иметь особое значение при определении цистина в присутствии больших количеств углеводов.

2. ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФОСФОРНОВОЛЬФРАМОВОЙ КИСЛОТЫ (ВИНТЕРШТЕЙН [686], ФОЛИН [231])

История вопроса. В 1901 г. Винтерштейн [686] сообщил о том, что если к раствору цистеина добавить разбавленный раствор фосфорновольфрамовой кислоты, то образуется белый осадок, состоящий только из цистина. Фосфорновольфрамовая кислота восстанавливается и окрашивает раствор в темносиний цвет.

Эта реакция между цистеином и фосфорновольфрамовой кислотой послужила Фолину и Люнэй [231] основанием для разработки в 1922 г. метода количественного определения цистина в растворе. Они воспользовались наблюдением Гефтера [285], что цистин восстанавливается до цистеина сульфитом натрия. Фолин полагал, что эта реакция протекает количественно, но Кларк [165] показал, что она идет согласно следующему уравнению:

$$RS \cdot SR + Na_2SO_3 \longrightarrow RSNa + RS \cdot SO_3Na.$$

Натриевая соль цистеина восстанавливает фосфорно-18-вольфрамовую кислоту (реактив на мочевую кислоту) с образованием низших окислов вольфрама. Вью [693] представлял эту реакцию следующим образом:

$$18WO_3 \xrightarrow{H_2} 16WO_3 \cdot W_2O_5 \cdot H_2O.$$

А. МЕТОД ФОЛИНА И ЛЮНЭЙ [231]

Реактивы. Фосфо-18-вольфрамовую кислоту получают по Фолину и Маколлум [228]. 100 *г* Na_2WO_4 смешивают с 80 *мл* 85% H_3PO_4 750 *мл* воды и кипятят несколько часов; после охлаждения раствор разбавляют до 1 *л*.

Метод. 1—5 *г* белка гидролизуют 12 час., нагревая с 25 *мл* 20% H_2SO_4. Гидролизат разбавляют до 100 *мл*. Определенную часть раствора (от 1 до 10 *мл*) наливают в мерную колбочку на 100 *мл*, добавляют 20 *мл* насыщенного раствора Na_2CO_3, 10 *мл* свежеприготовленного 20% раствора Na_2SO_3 и перемешивают. Спустя 5 мин. при сильном перемешивании добавляют 3 *мл* раствора фосфо-18-вольфрамовой кислоты (реактив на мочевую кислоту). Через 10 мин. доводят до метки и колориметрируют по стандарту цистина, приготовленному аналогичным образом.

Примечание. Метод Фолина и Люнэй неоднократно критиковался и видоизменялся, и тем не менее он все еще является единственным реальным основанием всех методов определения цистина и цистеина, основанных на восстановлении 6-валентного вольфрама.

Основным возражением была неспецифичность этой реакции по отношению к цистину. Большинство отмечавшихся прежде затруднений было связано с тем, что технический вольфрамат натрия содержал некоторое количество молибдена. Получавшаяся фосфорномолибденовая кислота восстанавливалась тирозином и другими фенольными группировками, содержавшимися в гидролизате (см. гл. II). Фосфо-18-вольфрамовая кислота восстанавливается также металлами (Вью [693]), продуктами распада углеводов и целым рядом других веществ, которые могут встречаться в белковом гидролизате.

Все нижеописанные видоизменения представляют попытку повысить специфичность этого метода определения цистина.

Б. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТИНА ПО ФОЛИНУ И МАРЕНЦИ [234]

Реактивы. Приготовление фосфорно-18-вольфрамового реактива, не содержащего молибдена [235]. 100 *г* Na_2WO_4 растворяют в 200 *мл* воды и медленно добавляют при охлаждении 20 *мл* 85% H_3PO_4. Через раствор пропускают в течение 20 мин. очень медленный ток сероводорода. Затем, продолжая пропускать сероводород, добавляют еще 10 *мл* или более 85% H_3PO_4. Раствор должен быть при этом слабокислым по конго. Если кислотность недостаточна, прибавляют еще немного H_3PO_4. Через 20 мин. раствор фильтруют и прозрачную жидкость экстрагируют в делительной воронке 300 *мл* амилового спирта. Если необходимо, нижний слой фильтруют и переносят в тарированную колбу. Вес реакционной смеси доводят до 300 *г*, добавляя необходимое количество воды. Сероводород удаляют кипячением. Затем уменьшают степень нагрева, добавляют еще 20 *мл* 85% H_3PO_4 и нагревают раствор с обратным холодильником в течение часа. После этого снимают холодильник и добавляют несколько капель брома для разрушения синей окраски. Избыток брома удаляют кипячением.

В литровом стакане приготовляют раствор фосфорнокислого лития. К 25 *г* Li_2CO_3 прибавляют 50 *мл* 85% H_3PO_4, разбавляют 250 *мл* воды и кипятят для удаления угольной кислоты. Охлажденный раствор Li_3PO_4 добавляют к фосфорновольфрамовой кислоте и доводят до 1 *л*.

Реактив фосфорновольфрамовой кислоты. (Упрощенный метод приготовления, [236].) К раствору 32—33 *мл* 85% H_3PO_4 в 150 *мл* воды добавляют 100 *г* Na_2WO_4. Раствор слабо кипятят в течение 1 часа с обратным холодильником и разбавляют до 500 *мл*. Затем вносят 3—5 *г* Na_2WO_4 и продолжают кипятить еще 10—15 мин. Добавляют немного бромной воды и избыток брома удаляют кипячением. Полученная фосфорно-18-вольфрамовая кислота не должна давать реакции с тирозином и с мочевиной при добавлении цианистого натрия.

Фолин [236] полагает, что этот реактив содержит в основном фосфо-18-вольфрамовую кислоту «В» (Вью [693]). В отличие от реактива, содержащего фосфорно-18-вольфрамовую кислоту «А», он не реагирует с фенолами.

Метод. а) Гидролиз. 100 *мг* белка гидролизуют в течение ночи 20 *мл* 6 н. H_2SO_4. Раствор разбавляют до 100 *мл* и обесцвечивают, взбалтывая с каолином.

б) Определение. К 2 *мл* исследуемого раствора прибавляют 2 *мл* свежеприготовленного 20% раствора Na_2SO_3. Спустя 1 мин. добавляют при перемешивании 18 *мл* 20% Na_2CO_3, 2 *мл* 20% раствора Li_2SO_4 и 8 *мл* реактива фосфорно-18-вольфрамовой кислоты. Если взято более 2 *мл* гидролизата, то на каждый миллилитр прибавляют еще 0,5 *мл* раствора соды. Через 3—5 мин. раствор разбавляют до 100 *мл* 3% раствором Na_2SO_3 и колориметрируют.

Примечание. В комментариях к методу Фолин и Маренци [234] пишут: «Каждое из этих изменений представляет собой только незначительное улучшение, которое всегда можно ожидать при разработке всякого нового метода». Улучшения заключаются в следующем: приготовление «реактива на мочевую кислоту», не содержащего примеси «фенольного реагента» [235]; уменьшение количества применяемого 20% раствора сульфита натрия (вместо 10 *мл* берут 2 *мл*) и увеличение количества применяемого фосфорновольфрамового реагента.

Перед добавлением реагента, вызывающего окраску, Рimингтон [546] прибавляет 5 *мл* 40% мочевины. Этим он предупреждает возможность появления мути вследствие образования осадка натриевой соли фосфорно-18-вольфрамовой кислоты.

Мирский и Ансон [459] сделали важное наблюдение, что интенсивность окраски, образующейся при действии реагента Фолина и Маренци на эквивалентное количество цистеина и цистина в присутствии сульфита, точно равна отношению 2 : 1. Этот факт был в следующем году объяснен Кларком [165] (см. исторический обзор).

в. МЕТОД ФОЛИНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ТОМПСЕТОМ [615]

Основы метода. Вместо раствора соды, применяемого Фолином, авторы пользуются 20 *мл* насыщенного раствора $NaHCO_3$. Это простое изменение предохраняет от образования мути, вызываемой фосфорновольфрамовокислым натрием.

г. МЕТОД ФОЛИНА ДЛЯ КИСЛЫХ РАСТВОРОВ, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ЛАГГОМ (ЛАГГ [425, 426])

Основы метода. Лагг [425] нашел, что окраска, развивающаяся при действии фосфорно-18-вольфрамовой кислоты на цистеин, на цистин + сульфит и др., устойчива в пределах pH 5,0—6,5. При избытке реагента окраска строго пропорциональна содер-

жанию восстановителя. Лагг установил также, что прибавление хлорной ртути при pH 5,7 задерживает развитие окраски с сульфгидрильными и дисульфидными соединениями, но не оказывает влияния на реакцию с левулиновой кислотой или фурфуролом. Степень окраски, образующейся при добавлении сульфита натрия к реагенту, в отсутствие дисульфидов больше, чем в присутствии последних.

Реактивы. 4 мол. раствор ацетата натрия. 544 *г* $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ растворяют в воде и доводят объем до 1 *л*.

Цитратный буфер. 105 *г* $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ и 52,5 *г* $NaOH$ растворяют при охлаждении в 500 *мл* воды. Затем добавляют раствор 13,6 *г* $ZnCl_2$ в 20 *мл* воды и 26,8 *г* NH_4Cl в 200 *мл* воды. Раствор доводят до 1 *л*.

Буферный раствор сульфита. 9,5 *г* метабисульфита натрия ($Na_2S_2O_5$) растворяют в 70 *мл* воды и добавляют 15 *мл* 4 мол. раствора ацетата натрия. Смесь разбавляют до 100 *мл*.

0,1 мол. раствор хлорной ртути. 2,72 *г* $HgCl_2$ растворяют в 100 *мл* воды.

Соль Мора. 3,268 *г* $FeSO_4(NH_4)_2SO_4 6H_2O$ растворяют в 8,5 *мл* 1 н. H_2SO_4 и разводят водой до 100 *мл*. Перед употреблением раствор разбавляют в 10 раз.

Стандартный раствор цистина. 500 *мг* цистина растворяют в 50 *мл* 1 н. HCl и разбавляют водой до 500 *мл*.

Проведение опыта. Пользуются мерными колбочками на 100 *мл*. Испытуемый раствор частично нейтрализуют, а затем доводят до pH 5,7 титрованием уксуснокислым натрием по бромкрезолпурпуру.

а) Определение цистеина в отсутствие посторонних восстановителей. В мерную колбу на 100 *мл* наливают последовательно 10 *мл* цитратного буфера и 2 *мл* 4 мол. раствора ацетата натрия. Затем вносят 16 *мл* воды, *x мл* гидролизата и такое количество ацетата натрия, чтобы довести реакцию среды до pH 5,7. Добавляют 2 *мл* реагента Фолина (фосфорно-18-вольфрамовая кислота). Через 7 мин. раствор доводят до метки и производят отсчеты. Если пользуются штуфенфотометром или фотоэлектрическим колориметром, то применяют следующие светофильтры: 720 μ, 668 μ [568, 45] или 520 μ [104].

б) Определение цистеина в присутствии посторонних восстановителей. Определение проводится так, как описано выше, только до прибавления испытуемого раствора добавляют 1 *мл* раствора $HgCl_2$. «Истинное количество» цистеина определяют по разности между количествами *а* и *б*.

в) Определение цистина при отсутствии посторонних восстановителей. Определение проводится как указано в разделе *а*, только после прибавления испытуемого раствора добавляют 1 *мл* раствора сульфита.

г) Определение цистина в присутствии посторонних восстановителей. Для удаления цистеина, находившегося в растворе, и цистеина, образовавшегося после восстановления цистина сульфитом, добавляют $HgCl_2$. «Истинное количество» цистина определяют по разности между количествами *в* и *г*.

Примечание. Если в гидролизате находятся цистин и цистеин, то надо внести поправку на то, что интенсивность окраски, вызываемой цистеином, при прибавлении сульфита будет вдвое больше той, которую дает цистин (см. Лагг [425]; Мирский и Ансон [460]; Шоберль и Рамбахер [568]).

В статье Лагга [426]. встречаются типографские опечатки: на странице 2164, строки 13, 33 и 34 напечатано: B, B, A, следует читать: b, b, a.

Шёберль и Рамбахер [563] пользовались вместо ацетатноцитратной смеси Лагга ацетатным буфером pH 5,2 (10 частей 2 мол. CH_3COONa + 3 части 2 мол. CH_3COOH). Восстановление сульфитом проводилось 20 мин. при 20° C, а реакция с реагентом Фолина — 30 мин. при 20°. Ставились контрольные опыты с реактивами. Для отсчета пользовались цейссовским штуфенфотометром со светофильтром 720 μ.

Для определения цистина и цистеина Кассель и Бранд [356] также пользовались реакцией Винтерштейн — Фолина в модификации Лагга и вели отсчеты в фотометре Цейсса. Они употребляли вдвое меньшее количество реактивов, чем Лагг [425]. Развитие окраски проводилось при 25° в течение 8 мин. вместо 7 мин., предложенных автором метода.

В том же году Балинт [45] также применил цейссовский фотометр. Он нашел, что интенсивность окраски подчиняется закону Бера в пределах 0,16—0,75 *мг* цистина при конечном объеме раствора в 20 *мл* и пользовании светофильтром 720 μ.

Д. РЕАКЦИЯ ВИНТЕРШТЕЙН — ФОЛИНА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ МИРСКИМ И АНСОНОМ [460]

Основы метода. Перед гидролизом весь цистеин белка окисляют до цистина перекисью водорода.

Реактивы. Фосфорномолибденовая кислота (Вью). 100 *г* $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ растворяют в 450 *мл* воды и добавляют 15 *мл* 85% H_3PO_4 и 80 *мл* концентрированной HCl. Раствор нагревают с обратным холодильником 8 час. В случае восстановления молибдена его окисляют нагреванием с небольшим количеством брома, а избыток брома удаляют кипячением. Раствор разбавляют до 1 *л*.

Метод. а) Гидролиз. Белок гидролизуют 15 час. с 6 н. H_2SO_4.

б) Определение цистеина. К 1—5 *мл* гидролизата (0,5 *мг* цистеина) прибавляют до 5 *мл* 1 н. H_2SO_4, затем 16 *мл* концентрированного раствора мочевины (100 *г* мочевины в 100 *г* воды),

4 *мл* 3,4 мол. буферного раствора pH 6,7—6,8 $K_2HPO_4 - KH_2PO_4$ (1 : 1) и 1 *мл* реагента Фолина [236] (фосфорно-18-вольфрамовая кислота) или реагента Вью [693] (фосфорно-18-молибденовая кислота). Через 5 мин. раствор доводят до желаемого объема и производят отсчет.

в) Цистин. Препарат белка растворяют в 100 *мл* щелочи (pH 9,6) и окисляют 5 *мл* 30% перекиси водорода в течение 30 мин. при комнатной температуре. Белок высаживают из раствора трихлоруксусной кислотой. Гидролиз и определение цистина проводят так, как описано выше, только вместо 16 *мл* раствора мочевины берут 14 *мл* и восстанавливают цистин до цистеина 1 *мл* свежеприготовленного 20% раствора Na_2SO_3 в течение 1 мин.

Е. РЕАКЦИЯ ВИНТЕРШТЕЙН — ФОЛИНА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ШИНОХАРА [580, 581, 582]

Основы метода. Для удаления меркаптанов и других посторонних восстановителей экстрагируют кислый гидролизат 2—3 раза хлороформом. Чтобы задержать образование окраски с цистеином, пользуются формальдегидом.

Реактивы. Бисульфит. 1 мол. раствор $NaHSO_3$ доводят до pH 5,0 добавлением молярного раствора NaOH. Раствор может сохраняться 70 дней.

Метод. а) Перед проведением опыта нейтрализуют гидролизат гидроокисью лития примерно до pH 5,2 (по бромкрезолпурпуру).

б) Цистеин. А. В колбочку на 50 *мл* вносят 10 *мл* 2 мол. раствора ацетата натрия, 3 *мл* 2 мол. уксусной кислоты, 2 *мл* доведенного до pH 5,2 гидролизата (0,5 *мг* цистеина), 4 *мл* фосфорно-18-вольфрамовой кислоты и доводят водой до 50 *мл*. Реакционную смесь перемешивают и проводят отсчет через 5—20 мин.

Б. Проводят опыт, как указано в разделе А, с тем изменением, что за 1—2 мин. до прибавления реагента Фолина в колбочку вносят 1 *мл* 37% раствора формальдегида.

Содержание цистеина $= I_А - I_Б$; Б — окраска, вызванная посторонними восстановителями, а I — коэфициент пропускания.

в) Цистин. В. В колбочку на 50 *мл* наливают 10 *мл* 2 мол. раствора ацетата натрия, 3 *мл* 2 мол. уксусной кислоты, 2 *мл* нейтрализованного гидролизата, 3 *мл* молярного раствора $NaHSO_3$, 4 *мл* реактива Фолина и доводят водой до 50 *мл*. Через 15—20 мин. проводят отсчет.

Г. Проводят опыт, как указано в разделе В, только до прибавления реактива Фолина добавляют 3 *мл* 0,1 мол. раствора $HgCl_2$.

Содержание цистина $= I_В - I_Г$; Г — окраска, вызванная посторонними восстановителями.

Расчет цистина и цистеина производят, как описано выше. Следует помнить, что смесь цистеина и сульфита обладает удвоен-

ной восстановительной способностью по сравнению с эквивалентным количеством цистина.

Реакции. Шинохара [582] представляет механизм реакции Винтерштейна следующим образом:

$$2RSH + (H_2O)_3 \cdot P_2O_5 \cdot (WO_3)_{18} \longrightarrow$$

$$RSSR + (H_2O)_3P_2O_5(WO_3)_{17} \cdot WO_2 + H_2O \text{ или } (H_2O)_3 \cdot P_2O_5 \cdot (WO_3)_{16} \cdot W_2O_5 + H_2O.$$

* Ж. РЕАКЦИЯ ВИНТЕРШТЕЙН — ФОЛИНА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ БЛОКОМ И БОЛЛИНГ [104]

Введение. Описанный ниже метод позволяет определить цистин в гидролизате с достаточной степенью точности в течение 15—20 мин. За исключением тех случаев, когда препараты белка содержат большие количества углеводов, результаты, получаемые по этому методу, совпадают с результатами, полученными по методу Лагг, наиболее трудоемкому из всех способов, основанных на реакции Фолина.

Метод. а) Гидролиз. 50—250 *мг* белка гидролизуют с 2—5 *мл* 18% HCl в течение 5—7 час. или со смесью из равных количеств 18% HCl и 90% HCOOH в течение 18 час. После конца гидролиза жидкость упаривают в чашке на паровой бане до густого сиропа. Таким путем удаляют часть соляной кислоты и превращают весь цистеин в цистин. Остаток растворяют в теплой воде, доводят до желаемого объема и фильтруют через мягкий сухой фильтр. Раствор должен давать отрицательную нитропруссидную реакцию. Если необходимо, обесцвечивают углем [19].

б) Определение. Две аликвотные порции раствора (0,4—1,2 *мг* цистина) вносят в градуированные цилиндры на 50 *мл* с притертыми пробками. Добавляют воды до 5 *мл* и прибавляют затем 1 *мл* 10% раствора Li_2SO_4 и 5 *мл* насыщенного раствора $NaHCO_3$. После перемешивания вносят 2 *мл* фосфорно-18-вольфрамовой кислоты (реактив Фолина), предварительно разбавленной равным объемом воды, и тотчас же прибавляют к испытуемому раствору 1 *мл* свежеприготовленного 10% раствора Na_2SO_3, а к «контрольному опыту» — 1 *мл* воды. Растворы перемешивают и цилиндры помещают на 5—8 мин. в воду, нагретую приблизительно до 30°. Затем растворы доводят водой до 50 *мл* и производят отсчеты в фотоэлектрическом колориметре. Пользуются светофильтром 520 μ. Пределы определения — 0,1—1,2 *мг* цистина. Сравнивают с контрольным опытом.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТИНА ТИТРОВАНИЕМ ИОДОМ

История вопроса. В 1901 г. в классическом исследовании о содержании серы в белках К. А. Х. Мёрнер [463] показал, что цистеин можно определять количественно титрованием иодом в 10% соляной кислоте. Индикатором служил крахмал.

А. МЕТОД ОКУДА, ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ МЁРНЕРА [482]

Основы метода. В белковом гидролизате восстанавливают цистин цинком. Титруют образовавшийся цистеин титрованным раствором KIO_3 — KI, соблюдая соответствующие условия: кислотность среды, температура, объем и т. д.

Реактивы. $^1/_{300}$ мол. раствор KIO_3. 2,14 *г* KIO_3 растворяют в 3 *л* 2% соляной кислоты.

Метод. а) Гидролиз и восстановление. 1—10 *г* белка гидролизуют 20 час. с 3—30 *мл* соляной кислоты. Избыток кислоты удаляют в вакууме. Гидролизат обесцвечивают активированным углем и восстанавливают цистин избытком цинковой пыли в течение 30 мин. при комнатной температуре. Раствор фильтруют и разбавляют до 100 *мл*.

б) Определение кислотности раствора. В аликвотной части гидролизата устанавливают количество *«свободной»* соляной кислоты титрованием. Затем доводят содержание *«свободной»* кислоты в гидролизате точно до 2%, добавляя соответствующее количество NaOH.

в) Титрование цистеина. В эрленмейеровскую колбочку наливают аликвотную часть гидролизата (не больше 20 *мл*) и разбавляют до 20 *мл* 2% раствором соляной кислоты. Добавляют 5 *мл* 5% водного раствора KI и 5 *мл* точно 4% соляной кислоты. Титруют $^1/_{300}$ мол. раствором KIO_3 до постоянной желтой окраски. Полученные результаты сравнивают с данными титрования стандартного раствора цистина, обработанного *точно таким же образом* — в тех же температурных условиях и т. д.

Примечание. Теруучи и Окабе [603] добавляют 0,5 *мл* 0,5% растворимого крахмала в 36% растворе NaCl и титруют до глубокой синей окраски, сохраняющейся в течение 1 мин. В этом случае к раствору, приготовленному по указанию Окуда, добавляют еще 0,5 *мл* 4% HCl для компенсации 0,5 *мл* раствора крахмала.

Люкас и Кинг [423] подвергли критическому изучению метод Мёрнер — Окуда. Они отмечают невозможность установить какие-либо простые правила, которые позволили бы получать количественные результаты. Температура, кислотность среды, концентрация цистеина и иода, скорость и порядок прибавления реагентов, концентрация KI — все это в разных направлениях и в разной степени сказывается на связывании иода. Авторы рекомендуют соблюдать следующие условия:

температура	—0°
кислотность	—1 н. HCl
концентр. KI	—0,5%
индикатор	—крахмал

При этом все же не удается достигнуть теоретических результатов ($2RSH + I_2 \rightarrow RSSR + 2HI$).

Б. МЕТОД МЁРНЕР — ОКУДА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ВИРТЮ И ЛЬЮИСОМ [664]

Основы метода. Вместо смеси $KIO_3 + HCl + KI$ пользуются раствором иода в иодистом калии. Избыток иода оттитровывают гипосульфитом.

Метод. а) Восстановление. Доводят содержание «свободной» соляной кислоты в гидролизате до 2% и восстанавливают цистин цинковой пылью при комнатной температуре в течение 30 мин.

б) Приготовление растворов. Раствор иода в KI. 1,27 *г* чистого иода и 2 *г* KI растворяют в 400 *мл* воды, фильтруют и доводят объем до 1 *л*. Пока происходит процесс восстановления, в 3 эрленмейеровские колбочки наливают по 5 *мл* раствора иода в иодистом калии и помещают в охладительную смесь. С одним из растворов проводят контрольный опыт: прибавляют 15 *мл* 2% соляной кислоты и титруют 0,02 н. $Na_2S_2O_3$. Индикатором служит 0,5 *мл* 2% растворимого крахмала в насыщенном растворе NaCl.

в) Предварительное титрование. К замороженному раствору иода добавляют 15 *мл* гидролизата, содержащего цистеин, и 0,5 *мл* крахмала. Затем добавляют из бюретки 0,02 н. раствор $Na_2S_2O_3$ с такой скоростью, чтобы синяя окраска, появляющаяся по мере таяния раствора иода, немедленно исчезала.

г) Конечное титрование раствора. К замороженному раствору иода добавляют на 0,05 *мл меньше* раствора гипосульфита, чем пошло в предварительном титровании, затем вносят 15 *мл* гидролизата и взбалтывают таким образом, чтобы синяя окраска исчезала по мере ее появления. К тому моменту, когда весь раствор иода растает, титрование должно быть закончено.

В. РЕАКЦИЯ МЕРНЕР — ОКУДА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ЛЕВАЙНОМ [406]

Основы метода. В методе Левайна окисление производится иодом в молярном растворе HI.

Примечание. Цистеин окисляют количественно до цистина при комнатной температуре молярным раствором HI.

Метод. Раствор, содержащий цистеин, доводят до 1 молярного содержания HI, добавляя для этого $KI + HCl$. 10 *мл* полученного раствора титруют 0,025 н. $Na_2S_2O_3$ до исчезновения желтой окраски. Конец титрования устанавливают по крахмалу. Добавляют 5—10 *мл* 0,1% крахмала в 0,1% водном растворе салициловой кислоты. Если раствор окрашен в синий цвет, добавляют через каждые 10 сек. по 0,02 *мл* титрованного раствора $Na_2S_2O_3$, перемешивая до исчезновения окраски. Конец титрования снова проверяют добавлением нескольких капель I_2; при этом раствор должен снова окраситься в коричневато-фиолетовый цвет.

4. РЕАКЦИЯ САЛЛИВАНА
[595, 596, 597, 598, 602 и т. д.]

История вопроса. В 1926 г. М. Салливан нашел, что из всех аминокислот, обычно встречающихся в белковом гидролизате, только цистеин дает в присутствии $Na_2S_2O_4$ ясное красное окрашивание со щелочным раствором натриевой соли 4-сульфо-1,2-нафтохинона.

А. ПЕРВОНАЧАЛЬНЫЙ МЕТОД САЛЛИВАНА — 1926 [595]

Реактивы. Приготовление натриевой соли 4-сульфо-1,2-нафтохинона (Фолин [230]).

а) Растворяют 100 *г* β-нафтола (возогнанного) в 300 *мл* 10% раствора NaOH.

б) Растворяют в 4-литровом стакане 50—55 *г* $NaNO_2$ в 600 *мл* воды.

в) К раствору нитрита добавляют β-нафтол.

г) Вносят 300 *г* размельченного льда.

д) При сильном перемешивании добавляют 200 *мл* холодной 10% H_2SO_4. После окончания прибавления кислоты перемешивают еще 1—2 мин. Продолжают добавление H_2SO_4, пока ее общее количество не достигнет 800 *мл* и раствор не станет ясно кислым по конго. Оставляют стоять на 1 час.

е) Осадок фильтруют и промывают 1 *л* холодной воды.

ж) Осадок переносят в большую выпарительную чашку, насыпают сверху 100 *г* $NaHSO_3$ и 50 *г* Na_2SO_3 и перемешивают до разжижения массы. Для удаления смолы фильтруют через маленькую бюхнеровскую воронку и промывают остаток небольшим количеством воды.

з) Жидкость сразу переносят в 5-литровую темную (или завернутую в темную бумагу) склянку, содержащую 2000 *мл* воды и 500 *мл* концентрированной HCl. Склянку закупоривают и оставляют стоять на 36 час. в темноте. Затем отфильтровывают осадок и промывают 2 *л* холодной воды.

и) Осадок переносят в стакан и сверху насыпают 100 *г* $NaNO_3$. Добавляют тепловатую смесь 100 *мл* концентрированной HNO_3 и 350 *мл* воды. При этом начинают выделяться окислы азота (N_2O_4). Спустя 10 мин. смесь тщательно перемешивают в течение 2—3 мин. и оставляют стоять еще 20—30 мин. Если при прибавлении разбавленной HNO_3 не наблюдается никакой реакции, добавляют 1—5 *мл* концентрированной кислоты. Осадок отфильтровывают и промывают 1 *л* 10% раствора NaCl.

к) Влажный осадок помещают в большую фарфоровую чашку, добавляют 200 *г* буры в порошке и 450 *мл* воды, перемешивают, пока почти весь хинон не растворится и фильтруют.

л) К раствору хинона добавляют холодную смесь, состоящую из 850 *мл* 95% спирта, 150 *мл* концентрированной HCl, к которой

перед добавлением прибавлено несколько капель брома, и сильно перемешивают. После 5-минутного стояния хинон отфильтровывают и промывают 700—800 *мл* 10% раствора NaCl.

м) Повторяют перекристаллизацию хинона из раствора буры, как описано выше (за исключением операции промывания). Промывают последовательно 300—400 *мл* спирта и 200 *мл* эфира. Выход 75—90 *г*.

Проверка чистоты препарата. *а)* Окраска свежеприготовленного 1% раствора хинона должна быть слабее, чем окраска 0,5 н. раствора $K_2Cr_2O_7$.

б) Разбавляют 2 *мл* 1% раствора хинона до 25 *мл*, добавляют 1 *мл* 50% уксусной кислоты и 1 *мл* 15% раствора $Na_2S_2O_3$. Раствор должен через несколько секунд обесцветиться.

Метод. а) Цистеин. К 5 *мл* раствора цистеина (0,4 *мг*) прибавляют 1 *мл* 0,5% раствора натриевой соли 4-сульфо-1,2-нафтохинона и перемешивают. Затем вносят 5 *мл* 10% раствора Na_2SO_3 в 0,5 н. NaOH и 1 *мл* 5% раствора NaCN. Оставляют стоять на 10—20 мин. Постороннюю окраску удаляют путем добавления 1—2 *мл* 2% раствора $Na_2S_2O_4$ в 0,5 н. NaOH.

б) Цистин. «Восстанавливают» 0,4 *мг* цистина в 5 *мл* раствора в течение 10 мин. при комнатной температуре, добавляя 1 *мл* 5% раствора NaCN, и проводят опыт, как описано выше.

Примечание. Ценность метода заключается в большой специфичности реакции. Однако многие исследователи отмечают ряд трудностей при применении этого метода в том виде, как он был описан первоначально.

Прэнти [530] восстанавливает цистин в 0,1 н. растворе HCl несколькими миллиграммами цинковой пыли. При этом удаляется также значительная часть посторонней окраски. Поллярд и Чибнэлл [524] указывают, что, применяя видоизмененный метод Салливан — Прэнти, им удалось определить в белках трав 90—95% цистина. Они, в свою очередь, внесли в метод ряд изменений. Так, вместо 1 *мл* 0,5% раствора нафтохинона по Салливану прибавляется 1 *мл* 1% раствора.

Крийгсман и Буман [391] при определении цистина в крови по методу Салливана пользовались цейссовским штуфенфотометром со светофильтром 57, т. е. 570 μ.

Чтобы избежать влияния изменяющихся количеств аминокислоты на развитие окраски, Лагг [427] насыщает раствор гликоколем. Он также тщательно проверяет pH, при котором проводится реакция. Ионы закисного железа, цинка и других металлов мешают реакции.

Пользуясь цейссовским штуфенфотометром и светофильтром 530 μ, Башилл, Лэмпитт и Бэкер [136] нашли, что метод Салливана в его первоначальном варианте дает ошибку в $\pm 25\%$. В методе Лагга ошибка снижается до $\pm 8\%$, если через раствор

пропускать быстрый ток очищенного азота в течение 30 сек. непосредственно перед прибавлением и 30 сек. немедленно после добавления гипосульфита. Башилл и сотрудники [136] предлагают прибавлять к белковому гидролизату различные количества цистина и вычерчивать кривую коэфициентов пропускания. Кривую экстраполируют до нуля, и точка пересечения с абсциссой является мерой содержания цистина в гидролизате.

Эндрью и Эндрью [31] критикуют модифицированный Лаггом метод Салливана, так как окраски очень слабы и весь метод слишком сложен. Предложенные ими изменения заключаются в следующем: они увеличивают количество добавляемого сульфонафтохинона вчетверо и оставляют раствор стоять в темноте в течение 30 мин. до прибавления $Na_2S_2O_4$. После прибавления сульфонафтохинона Эндрью и Эндрью [31] выжидают точно 20 сек. и затем прибавляют раствор Na_2SO_3. Кун и Денюэль [393] рекомендуют пользоваться светофильтром 470 μ при определении цистина по методу Салливан — Лагга.

Б. МЕТОД САЛЛИВАНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ УИЛКЕН — ДЖОРДЭНОМ [558]

Основы метода. Цистин осаждают количественно полухлористой медью при pH 4,5.

Реактивы: для удаления $CuCl_2$ встряхивают 500 *мг* полухлористой меди с 1% раствором соляной кислоты. Белый осадок Cu_2Cl_2 растворяют в минимальном количестве 25% раствора KCl в 0,2% соляной кислоте. Перед каждым опытом приготовляют свежий раствор.

Метод. а) Осаждение цистеина в виде меркаптида меди. Определенную часть гидролизата, содержащую 2 *мг* цистеина, наливают пипеткой в центрифужную пробирку на 50 *мл* и добавляют 2,5 *мл* ледяной уксусной кислоты. Затем доводят реакцию до pH 4,5 (бромкрезолзеленый), прибавляя необходимое количество 10% раствора KOH. Выпавший осадок гуминов удаляют и промывают ацетатным буфером (pH 4,5). После разбавления раствора до 40 *мл* прибавляют 5—10 капель реактива Cu_2Cl_2. Через 5—60 мин. хлопьевидный осадок отцентрифуговывают и промывают спиртом.

б) Выделение цистина из медной соли. Осадок растворяют в 5 *мл* 1% HCl и переносят раствор в градуированный цилиндр на 25 *мл*, смывая водой. Затем добавляют последовательно при перемешивании: 2,5 *мл* 5% уксусной кислоты, 1 *мл* 10% раствора роданистого калия и такое количество пиридина, чтобы довести реакцию раствора до pH 4,5. Раствор разбавляют водой до 25 *мл*. Выпавший осадок (пиридин-роданилат меди) удаляют.

Определение цистина. Для уничтожения буферности среды к определенной части раствора (5 *мл*) добавляют 1 *мл* 10% раствора KOH и проводят реакцию Салливана.

Примечание. Россов и Уилкен — Джордэн [558] отмечают, что если к испытуемому раствору добавлено слишком много полухлористой меди или концентрация KCl слишком высока, то меркаптид меди не растворяется нацело в 5 *мл* 1% соляной кислоты. В этих случаях следует прибавить немного цинковой пыли для превращения полухлористой меди в хлористый цинк и свободную медь. После разложения медного производного роданистым калием и пиридином через раствор пропускают ток воздуха или же оставляют его стоять в течение некоторого времени до проведения реакции Салливана, чтобы окислить цистеин до цистина.

Циттль и О'Дэлл [698] пользуются для осаждения цистина закисью меди в разбавленном растворе ацетата натрия вместо полухлористой меди, рекомендованной Россовым и Уилкен—Джордэном.

в. МЕТОД, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ САЛЛИВАН — ГЕССОМ В 1937 г. [598]

Основы метода. Скорость гидролиза белка сильно увеличивается, если к раствору добавить хлористый титан. Образующийся при гидролизе цистин полностью восстанавливается до цистеина.

Реактивы: 20% раствор $TiCl_3$, сохраняемый над цинковой пылью.

Метод. а) Гидролиз. 1 *г* белка гидролизуют 5 *мл* 20% соляной кислоты, к которой прибавлен 1 *мл* 20% раствора $TiCl_3$. Нагревают с обратным холодильником в течение 1—2 час. Температура масляной бани — 125°. Гидролизат доводят примерно до pH 6, добавляя по каплям 5 н. раствор NaOH. Затем фильтруют и промывают осадок $Ti(OH)_3$ 5 *мл* воды. Фильтрат подкисляют соляной кислотой до pH 3,5 и разбавляют до 35 *мл* 0,1 н. HCl.

б) Определение. А. К 5 *мл* фильтрата прибавляют 1 *мл* 0,5% раствора Na-сульфонафтохинона и взбалтывают в течение 10 сек. Затем добавляют 5 *мл* 10% раствора Na_2SO_3 в 0,5 н. NaOH и 1 *мл* 1% раствора NaCN в 0,8 н. NaOH. Через 30 мин. прибавляют 1 *мл* 2% раствора $Na_2S_2O_4$ в 0,5 н. NaOH. Производят измерения по стандарту *цистина*, приготовленному аналогичным образом.

Б. Можно превратить цистеин в цистин, пропуская через раствор ток воздуха. В этом случае 5 *мл* гидролизата, не содержащего цистеина, обрабатывают за 10 мин. до проведения опыта 2 *мл* 5% раствора NaCN в 1 н. NaOH. После этого проводят опыт, как указано в разделе А. Измерения производят по стандарту *цистина*, приготовленному аналогичным образом.

Примечания. Салливан и Гесс [598] рекомендуют пользоваться для обесцвечивания гидролизата активированным углем (Carbex E). Чтобы избежать образования гуминов и уменьшить разрушение цистина, Лагг [431] проводит гидролиз белка

57% иодистоводородной кислотой в токе азота. Для определения цистина в гидролизате пользуются в качестве стандарта цистином или цистеином, которые обрабатывают так же, как и испытуемый раствор. Для контрольного опыта пользуются желатиной, гидролизованной HI. Лагг указывает, что случайные ошибки в этом случае составляют 3—5%, а потери при гидролизе — 2%.

г. МЕТОД САЛЛИВАН — ГЕСС — ГОВАРДА, РАЗРАБОТАННЫЙ В 1942 г. [602]

Основы метода. Если в двух отдельных порциях гидролизата восстановить цистин водородом in statu nascendi (NaHg) и NaCN, то можно определить цистин и цистеин в смесях.

1. $RSSR + H_2 (NaHg) \longrightarrow 2RSH$ (восстановление)

2. $RSSR + NaCN \longrightarrow RSNa + RSCN$ (реакция замещения)

Метод. А. «Восстановление» NaCN. К 5 *мл* раствора (1 *мг* цистина) прибавляют 2 *мл* свежеприготовленного 5% раствора NaCN, перемешивают и оставляют стоять на 10 мин. Затем добавляют 1 *мл* 1% раствора натриевой соли 4-сульфо-1,2-нафтохинона, взбалтывают 10 сек., прибавляют 5 *мл* 10% раствора Na_2SO_3 в 0,5 н. NaOH, перемешивают и оставляют стоять 30 мин. После этого прибавляют 1 *мл* 5 н. NaOH и 1 *мл* 2% раствора $Na_2S_2O_4$ в 0,5 н. NaOH. Измерения проводят по стандарту цистина, приготовленному аналогично.

Б. Восстановление амальгамой натрия. Восстанавливают раствор (2 *мг* цистина в 10 *мл* 0,1 н. HCl) при комнатной температуре в течение 1 часа 1 *мл* 0,2% амальгамы натрия. Смесь от времени до времени встряхивают. Сливают 5 *мл* верхнего слоя и определяют «цистин», как указано в разделе А.

Цистеин = Е — А

Цистин = Б-цистеин

Примечание. Из вышеприведенных уравнений реакции (1 и 2) следует, что равные по весу количества цистина и цистеина после обработки амальгамой натрия развивают одинаковую окраску. Интенсивность этой окраски вдвое больше той, которая образуется после обработки равного количества цистина цианистым натрием.

5. ОСАЖДЕНИЕ ЦИСТЕИНА В ВИДЕ МЕРКАПТИДА ЗАКИСИ МЕДИ

История вопроса. В 1929 г. Ф. Г. Гопкинс сделал интересное наблюдение, что тиольные производные (восстановленный глютатион) осаждаются количественно небольшим избытком закиси меди из разбавленного раствора серной кислоты (0,5 н. — 1 н.). Это открытие послужило основанием для следующих методов определения цистина.

А. МЕТОД ВИКЕРИ И УАЙТА [652]

Основы метода. Цистеин образуется в процессе гидролиза при добавлении олова. Цистеин и все другие сульфгидрильные соединения осаждают закисью меди.

Реактивы. Закись меди (Циттль и О'Дэлл [698]). Раствор 7 *г* $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 100 *мл* воды добавляют к 100 *мл* раствора, состоящего из 170 *г* виннокислого натрия ($C_4H_4O_6Na_2 \cdot 2H_2O$), 520 *мл* воды и 80 *мл* насыщенного раствора NaOH. Феллингов раствор нагревают до кипения и вносят раствор 1 *г* глюкозы в 200 *мл* воды. Кипятят 3 мин. и отмывают осадок закиси меди декантацией.

Метод. а) Гидролиз. 2 *г белка* (20 *мг* цистина) гидролизуют в течение 24 час. кипячением с 20 *мл* 8 н. H_2SO_4. После растворения белка добавляют 2—3 *г* гранулированного олова.

б) Осаждение цистеина в виде меркаптида закиси меди. После окончания гидролиза удаляют осадок и разбавляют фильтрат до 100 *мл.* Нагревают раствор до 40—45° и добавляют водную суспензию Cu_2O порциями по 200 *мг* до тех пор, пока закись меди не будет в избытке. Это обнаруживается по изменению окраски осадка из серой в розовую или красную. При прибавлении закиси меди раствор сильно перемешивают. Затем раствор охлаждают до 10° и прибавляют по каплям 10 н. раствор NaOH до pH 4—5 (бумажка конго окрашивается в красный цвет). Суспензию оставляют на ночь в холодном месте.

в) Разложение меркаптида закиси меди. Осадок центрифугируют и тщательно промывают для удаления серной кислоты. Промытый осадок суспендируют в 400 *мл* воды, содержащей 1—2 *мл* HCl, и разлагают медную соль сероводородом. Осадок сернистой меди промывают разбавленной соляной кислотой. Фильтрат и промывные воды концентрируют до 150 *мл* и, чтобы удалить следы серной кислоты, добавляют небольшой избыток гидроокиси бария. Сернокислый барий отфильтровывают и промывают разбавленной соляной кислотой.

г) Определение цистина. Содержание цистина в фильтрате устанавливают по азоту или по сере. Для определения серы рекомендуется пользоваться окислительной смесью Вольша и Клепетара [668]. Получение смеси: в 100 *мл* воды растворяют 50 *г* $Cu(NO_3)_2$, 10 *г* NH_4NO_3 и 25 *г* NaCl и добавляют насыщенный раствор Na_2CO_3 до щелочной реакции на лакмус.

Примечание. Авторы утверждают, что их метод дает совпадающие с другими методами результаты в пределах 10%.

Б. МИКРОМЕТОД ГРАФА [264]. МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ГОПКИНС — ВИКЕРИ

Реактивы. Цитратно-ацетатный буфер. Растворяют в 200 *мл* воды 20 *мл* ледяной уксусной кислоты, 12 *г* лимоннокислого натрия и 15 *г* лимонной кислоты.

Метод: а) Гидролиз и восстановление. Навеску белка, содержащую 2—5 *мг* цистина, гидролизуют 18% соляной кислотой. Избыток кислоты удаляют в вакууме. Остаток растворяют в 10 *мл* воды и восстанавливают цистин 100 *мг* цинковой пыли, нагревая раствор в течение часа с обратным холодильником.

б) Осаждение. Доводят кислотность среды до pH 5, добавляя 8 н. раствор уксуснокислого натрия. Через 15 мин. осадок отфильтровывают, промывают горячей водой. Объем раствора — 30—35 *мл*. Подкисляют раствор ледяной уксусной кислотой до pH 4, нагревают до кипения и прибавляют по каплям при механическом перемешивании суспензию Cu_2O до тех пор, пока осадок не станет оранжевым или темнокрасным. Медную соль центрифугируют и промывают 4 раза разбавленным (1 : 10) цитратно-ацетатным буфером.

в) Определение цистина. Осадок переносят в сосуд соответствующего объема и окисляют 1 *мл* окислительной смеси (10 *г* K_2CO_3, 20 *г* KNO_3 и 10 *г* $KClO_3$, растворенные в минимальном количестве воды). Смесь упаривают досуха и нагревают до красного каления в течение 5 мин. Ион SO_4'' определяют весовым путем в виде $BaSO_4$.

Примечание. Викери [652] и Граф [264] полагают, что цистин определяется с одинаковой степенью точности как по общему азоту, так и по содержанию серы в осадке медной соли. Однако Шульц и Варс [572] возражают против этого взгляда, а Люкс и Беверидж пишут [424]: «Несомненно, определение содержания цистеина в осадках меркаптида по общему азоту заслуживает мало доверия».

Циттль и О'Дэлл [698] согласны с Россовым и Уилкен — Джордэном [558] в том, что нет необходимости восстанавливать цистин до цистеина перед осаждением закисью меди. Они рекомендуют пользоваться методом Графа и Россова.

6. КОНДЕНСАЦИЯ С ДИМЕТИЛ-*п*-ФЕНИЛЕНДИАМИНОМ (ФЛЕМИНГ [225])

История вопроса. Одним из обычных методов определения сероводорода является метод конденсации сероводорода с диметил-*п*-фенилендиамином в присутствии цинка с образованием метиленового голубого. В 1930 г. Р. Флеминг показал, что цистеин при нагревании с диметил-*п*-фенилендиамином в присутствии $FeCl_3$ также образует соединение, окрашенное в синий цвет.

А. МЕТОД ТОЙОДА, ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ ФЛЕМИНГА [618]

Основы метода. Цистин восстанавливают цинком и соляной кислотой до цистеина, который нагревают затем с диметил-*п*-фенилендиамином в присутствии ионов окисного железа.

Реактивы. Краска. Растворяют 500 *мг* солянокислого диме-

тил-*п*-фенилендиамина на холоду в серной кислоте (50 *мл* конц. H_2SO_4 + 100 *мл* воды). Разбавляют водой до 1 *л*.

Железные квасцы. 25 *г* $Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 24H_2O$ растворяют в 100 *мл* воды и 5 *мл* концентрированной H_2SO_4. Раствор разбавляют до 200 *мл*.

Вода. Приготовляют воду, не содержащую серы, перегоняя ее, если необходимо, над $KMnO_4$.

Метод. 1 *мл* раствора цистина (0,05—0,25 *мг* цистина) помещают в градуированный цилиндр, добавляют 50 *мг* цинковой пыли и точно 0,50 *мл* 1 н. соляной кислоты. Затем тотчас же прибавляют 7,5 *мл* реактива диметил-*п*-фенилендиамина и 0,5 *мл* железных квасцов. Раствор разбавляют до 25 *мл*, закрывают цилиндр пробкой и через 12 час. производят измерения, пользуясь стандартом, приготовленным таким же образом.

Примечание. Необходимо, чтобы концентрация кислоты в испытуемом растворе и стандарте была одинакова.

* Б. МЕТОД ВЕССЕЛЯ, ОСНОВАННЫЙ НА РЕАКЦИИ ФЛЕМИНГА [641]

Реактивы. Краска. Растворяют 35 *мг* солянокислого диметил-*п*-фенилендиамина (Истмэн [492]) в 100 *мл* точно 6 н. серной кислоты. Каждые 2 недели приготовляется свежий раствор. Раствор хранится в рефрижераторе.

Железные квасцы. Растворяют 20 *г* $Fe_2(SO_4)_3(NH_4)_2SO_4 \cdot 24H_2O$ в 100 *мл* 1 н. H_2SO_4.

Метод. а) Гидролиз. Гидролизуют 25—100 *мг* белка в течение 18 час. с 2 *мл* смеси, состоящей из 58 *мл* концентрированной HCl и 63 *мл* 85—90% муравьиной кислоты. Гидролизат разбавляют до 10 *мл* 5 н. HCl.

б) Определение цистеина. В пробирку помещают 165 *мг* цинковой пыли, 3 *мл* раствора краски, 2 *мл* железных квасцов и оставляют стоять 10 мин. при комнатной температуре. Затем для растворения цинка пробирку ставят на 15—35 мин. в кипящую воду. Охлаждают, добавляют 1 *мл* гидролизата (0,05—0,20 *мг* цистеина) и 3 *мл* железных квасцов, перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 мин. После этого раствор охлаждают, разбавляют до 25 *мл* и производят измерения по стандарту. В стандартном растворе должна быть такая же концентрация кислоты, как и в испытуемом. Пользуются светофильтрами 575—580 μ.

в) Определение цистина. В пробирку наливают 1 *мл* испытуемого раствора (0,05—0,20 *мг* цистина), добавляют 3 *мл* краски и 165 *мг* цинковой пыли. Оставляют стоять на 2—4 мин. и добавляют 2 *мл* железных квасцов. Раствор от времени до времени перемешивают. После 45 мин. стояния при комнатной температуре вносят еще 3 *мл* железных квасцов, закрывают пробирку и помещают в кипящую баню на 45 мин. для растворения цинка. После

охлаждения разбавляют водой до 25 *мл*. Проводят отсчеты со светофильтром 575—580 μ, сравнивая с раствором реактивов.

Примечание. Интенсивность окраски изменяется в зависимости от силы и количества кислоты, поэтому очень важно строго соблюдать все условия реакции.

7. ГАЗОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТИНА И ЦИСТЕИНА (БАРНШТЕЙН [39])

Основы метода. Цистеин реагирует с иодом; избыток иода определяют газометрически по азоту, выделяющемуся после реакции с гидразином (см. Ван-Сляйк и Гаукинс [635]).

Примечание. Мы не описываем этот метод, так как он, повидимому, не применялся ни одним исследователем, кроме самого Барнштейна [39, 41]. Гесс [290] раскритиковал его, указав, что по этому методу получаются ошибочно высокие результаты.

8. ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТИНА (БРДИЧКА [130, 131])

История вопроса. В 1933 г. Брдичка [130] сообщил о том, что, пользуясь полярографом с капельным ртутным катодом, можно в присутствии солей кобальта обнаружить небольшие количества белка. Оказалось, что в реакцию вступает дисульфидная группа цистина. Это открытие послужило основанием для разработки метода определения цистина и других дисульфидов в очень малых количествах белкового гидролизата [131].

Хотя многие исследователи, так же как и Брдичка и Салливан и Гесс, отмечают, что полярографические методы дают хорошие результаты, все же мы приводим только метод Штерна, Бича и Мэси [590].

А. МЕТОД БРДИЧКА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ШТЕРНОМ, БИЧЕМ И МЭСИ [590]

Основы метода. Комплекс цистеина с кобальтом влияет каталитически на выделение водорода из воды.

Прибор. Пользуются стандартным капельным ртутным полярографом Гейровского. Гейровский показал, что, пользуясь в соответствующих условиях капельным ртутным электродом, можно обнаружить в растворе ион по увеличению силы тока при постоянном вольтаже. Кроме того, он установил, что существует определенная зависимость между увеличением силы тока при данном вольтаже и концентрацией иона, вызывающего это увеличение. Таким образом, можно провести одновременно качественный и количественный анализ, основанный на измерении вольтажа и силы тока раствора.

Определение. 0,5 *мл* гидролизата белка растворяют в 24,5 *мл* раствора, содержащего 0,1 н. NH_4Cl, 0,1 н. NH_4OH и 10^{-2} моля

$CoCl_2$. Определяют высоту полярографической волны кривой, отсчитывая ее от нуля. Затем к порциям по 0,5 *мл* определенного раствора прибавляют увеличивающиеся количества цистина и опять измеряют высоту волны при тех же условиях. Эту процедуру повторяют с 1,0 *мл*, 1,5 *мл* и 2 *мл* гидролизата. Содержание цистина в гидролизате высчитывают из полученных кривых.

Примечание. Необходимо держать постоянными вольтаж, высоту ртутного столба, температуру и скорость капания ртути.

Если полярографический анализ проводился на серии белков, аналогичных по аминокислотному составу (кроме цистина), то нет необходимости для каждого гидролизата составлять новые стандартные кривые. Но для каждого класса белков должна быть построена своя стандартная кривая.

По утверждению авторов, определение можно провести в течение 90 мин.

9. НИТРОПРУССИДНАЯ РЕАКЦИЯ

История вопроса. Мёрнер [463], повидимому, был одним из первых исследователей, предложивших пользоваться слабощелочным раствором нитропруссида натрия для количественного определения цистеина. Арнольд [35] подтвердил специфичность нитропруссидной реакции. Среди встречающихся в природе аминокислот ее дает только цистеин. Арнольд рекомендует при подщелачивании раствора заменить NaOH или KOH аммиаком. При прибавлении уксусной кислоты раствор быстро обесцвечивается.

А. МЕТОД ШИНОХАРА И КИЛЬПАТРИКА, ОСНОВАННЫЙ НА НИТРОПРУССИДНОЙ РЕАКЦИИ [579]

Метод. К 5 *мл* исследуемого раствора, содержащего цистеин, прибавляют последовательно 2 *мл* 0,2 молярного раствора уксуснокислого цинка, 2 *мл* молярного раствора NH_4OH и 0,5 *мл* 5% раствора нитропруссида натрия. После перемешивания проводят измерения по стандарту цистеина, приготовленному аналогичным образом и при той же температуре.

Б. РЕАКЦИЯ МЕРНЕРА, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ КРИШНАСВАМИ [392]

Метод. К раствору, содержащему 0,8—1,5 *мг* цистина, прибавляют 1 *мл* HCl, доводят до 5 *мл* и при взбалтывании добавляют 2 *мл* 5% водного раствора NaCN и 1 *мл* 20% раствора Na_2SO_3. Через 1 мин. прибавляют 10 *мл* 0,5 н. раствора NH_4OH. Дают постоять 5 мин. и прибавляют 0,2 *мл* 0,3 мол. раствора $ZnSO_4$ и 1 *мл* свежеприготовленного 5% раствора $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$, перемешивают и тотчас же производят отсчеты. Окраска сохраняется при 29° в течение 6—7 мин.

10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИСТЕИНА ПО ЕГО ВОССТАНАВЛИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ (ВОССТАНОВЛЕНИЕ СЕРЫ)

История вопроса. Образование сероводорода из серы, содержащейся в тканях, наблюдалось французскими исследователями еще во второй половине XIX века; однако только в 1907 г. Гефтер [285] установил, что восстановление серы белками и сульфгидрильными производными является стехиометрической, а не каталитической реакцией.

А. МЕТОД ГУТРИ И ОЛЛЕРТОНА [275]

Основы метода. Свободные сульфгидрильные группы определяют по их способности восстанавливать коллоидальную серу с образованием сероводорода.

Реактивы: коллоидальная сера. Быстро вливают пипеткой 20 *мл* горячего насыщенного раствора серы в абсолютном спирте в 50 *мл* кипящей воды. Упаривают до 20 *мл* и разбавляют до 25 *мл*. Каждый день приготовляют свежий раствор.

Метод. а) Образование H_2S. К 10 *мл* испытуемого раствора, содержащего белок или сульфгидрильные соединения, прибавляют 10 *мл* $^1/_{15}$ мол. фосфатного буфера (pH $7{,}0 \pm 0{,}1$), несколько капель цетилового спирта и 1 *мл* раствора коллоидальной серы. Смесь помещают в баню, нагретую до 30°, и током азота, не содержащего кислорода, отгоняют сероводород в 25 *мл* 2% раствора уксуснокислого цинка. Азот пропускают в течение 4 часов через промывную склянку с водным раствором HCN.

б) Определение сероводорода. А. Иодометрический метод. К раствору уксуснокислого цинка прибавляют 10 *мл* 0,001 н. раствора KIO_3, 2 *мл* 1% раствора KI, 10 *мл* соляной кислоты (1 : 5) и 1 *мл* растворимого крахмала. Избыток иода оттитровывают 0,001 н. раствором $Na_2S_2O_3$.

Б. Колориметрический метод. К раствору уксуснокислого цинка прибавляют 5 *мл* 0,1% раствора солянокислого диметил-*п*-фенилендиамина в 20% HCl и 5 *мл* $^1/_{50}$ мол. $FeCl_3$ в соляной кислоте (1 : 9), оставляют на ночь, разбавляют до 50 *мл* и определяют количество образовавшегося метиленового голубого.

Примечание. Метод Гутри и Оллертона является, повидимому, многообещающим как специфический метод, позволяющий определять цистин и цистеин в белках без проведения полного гидролиза [20].

11. РАЗЛИЧНЫЕ МЕТОДЫ ПРЯМОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИСТЕИНА

А. ИОДАЦЕТАТНАЯ РЕАКЦИЯ (РОСНЕР [554])

Основы метода. Сульфгидрильная группа белка реагирует с иодуксусной кислотой, выделяя иодистый водород, который за-

тем определяют.

$$RSH + ICH_2COOH \longrightarrow RSCH_2COOH + HI$$

$$2HI + H_2O_2 \longrightarrow I_2 + 2H_2O.$$

Метод. К 3,5 *мл* раствора, содержащего определенное количество растворимого белка, прибавляют 1,5 *мл* 1 мол. раствора фосфатного буфера (pH 7,3) и 5 *мл* 0,1 н. раствора ICH_2COOK. Оставляют стоять при комнатной температуре на разные промежутки времени от 40 мин. до 6 час. Затем добавляют 0,25 *мл* концентр. H_2SO_4 и 0,25 *мл* CCl_3 COOH (100 *г* + вода до 100 *мл*), фильтруют и к фильтрату прибавляют 0,1 *мл* 3% H_2O_2. Выделившийся иод определяют колориметрически. Экстраполируют к нулевому времени.

$$\% \text{ цистеина} = \text{мг иода} \times \frac{121{,}12}{126{,}93} \times \frac{100}{\text{мг белка}};$$

Б. РЕАКЦИЯ С ИОДОЗОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТОЙ (ГЕЛЛЕРМАН [288])

Основы метода. *о*-Иодозобензоат реагирует с сульфгидрильными группами:

$$2RSH + OIC_6H_4COOK \longrightarrow RSSR + IC_6H_4COOK + H_2O,$$

$$OIC_6H_4COOH + 2HI \longrightarrow IC_6H_4COOH + I_2 + H_2O.$$

Реактивы. Очистка *о*-иодозобензойной кислоты. Кислоту растворяют в минимальном избытке КОН. Затем осаждают током углекислоты, промывают водой и сушат над P_2O_5.

Фосфатный буфер, pH 7. Растворяют 117,7 *г*. K_2HPO_4 и 44,1 *г* KH_2PO_4 в воде и разбавляют раствор до 1 *л*.

Метод. К 10 *мл* испытуемого раствора, содержащего сульфгидрильные производные, добавляют 5 *мл* 1 мол. фосфатного буфера (pH 7) и 10,0 *мл* 0,02 н. раствора *о*-иодозобензоата. Через 30 сек. прибавляют свежеприготовленную смесь, состоящую из 500—1000 *мг* KI, 1,5 *мл* воды и 5 *мл* 1 н. HCl. Тотчас же титруют выделившийся иод титрованным раствором Na_2SO_3. Индикатором служит крахмал.

Примечание. Методы прямого определения сульфгидрильных групп, разработанные Роснером [554] и Геллерманом [288], по-видимому, лучше, чем метод титрования с порфириндином. Было найдено, что порфириндин окисляется при pH 7,2 тирозином [124].

12. ПРЯМОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЦИСТИНА ДО СУЛЬФАТА (КОЛЛЭН и ТЁННИС [137А])

Основы метода. При нагревании со щелочным раствором перманганата цистин окисляется количественно до сульфата. Метионин в этих условиях не образует сульфата.

Метод. Растворяют 10 *г* $KMnO_4$ и 160 миллимолей NaOH в 150 *мл* воды и прибавляют 1 *г* шерсти. Смесь нагревают на паровой бане в течение 48 час. Избыток $KMnO_4$ разрушают метанолом и после подкисления отфильтровывают MnO_2. Удаляют выпавший осадок SiO_2. Затем осаждают ион SO_4'', как обычно, хлористым барием из кипящего раствора.

Примечание. Этот метод, вероятно, имеет особое значение при определении цистина в препаратах белка, содержащих значительные примеси углеводов.

Раздел 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИОНИНА И ГОМОЦИСТИНА

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИЛЬНЫХ ГРУПП В БЕЛКАХ

История вопроса. Барджер и Койн [50] были первыми исследователями, указавшими на то, что метионин можно определить деметилированием иодистоводородной кислотой и определением образовавшегося иодистого метила. Эта реакция была использована Барнштейном [40] для определения количества метионина в белках.

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИОНИНА ПО ИОДИСТОМУ МЕТИЛУ — ПЕРВОНАЧАЛЬНЫЙ МЕТОД БАРНШТЕЙНА [40]

Основы метода. Гидролизуют и одновременно деметилируют белок нагреванием с концентрированной иодистоводородной кислотой (обратный холодильник):

$$CH_3SCH_2 \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} \cdot COOH + HI \longrightarrow HS \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - COOH + CH_3I$$

Реактивы: азотнокислое серебро. 8 *г* $AgNO_3$ кипятят 30 мин. с 500 *мл* абсолютного спирта с обратным холодильником. Раствор оставляют стоять в течение 2 дней, затем фильтруют, устанавливают титр и сохраняют в темноте.

Очистка углекислоты или азота. Газ пропускают через 2 промывные склянки, одна из которых содержит концентрированную серную кислоту, а другая — разбавленный раствор азотнокислого серебра.

Метод. а) Гидролиз и деметилирование. 500 *мг* белка помещают в круглодонную реакционную колбу на 100 *мл* и добавляют 10 *мл* перегнанной HI (уд. в. 1,7), содержащую 1% KH_2PO_2. В колбу кладут кусочки пористой тарелки и соединяют ее с обратным холодильником. Реакционная колба имеет боковой отвод, через который можно пропускать над кипящей жидкостью ток очищенной углекислоты или азота. Ток газа регулируют

таким образом, чтобы пузырьки можно было считать. Иодистый метил отгоняют в ряд промывных склянок. Первая из них содержит 10 *мл* 20% раствора $CdSO_4$ в разбавленной H_2SO_4 и 1 *мл* суспензии красного фосфора, вторая и третья — по 10 *мл* титрованного раствора $AgNO_3$ в абсолютном спирте. Гидролиз ведут в течение 6—8 час. или дольше.

б) Определение иодистого метила. Содержимое 2 и 3-й промывных склянок переносят в стакан и упаривают до 10 *мл*. Затем раствор разбавляют в мерной колбочке до 50 *мл* и фильтруют. К 5 *мл* аликвотного прозрачного фильтрата прибавляют 2 *мл* HNO_3, 2 *мл* насыщенного раствора железных квасцов и титруют 0,02 н. KCNS. Проводят контрольный опыт с реактивами без белка.

Примечание. Первыми исследователями, применившими в 1901 г. концентрированную иодистоводородную кислоту для гидролиза белка, были Коссель и Кучер. Глицерин, этанол, метанол, диэтиловый эфир и целый ряд других веществ образуют в этих условиях иодистый метил и иодистый этил, поэтому в их присутствии нельзя вести опыт.

Результаты определения этим методом метионина имеют тенденцию быть завышенными.

Бэйлей [43] заметил, что в промывные склянки с титрованным раствором азотнокислого серебра отгоняется небольшое количество сероводорода. Он предложил обрабатывать осадок иодистого серебра и сернистого серебра разбавленной азотной кислотой. $AgNO_3$, образовавшееся из Ag_2S, определяют и вносят соответствующую поправку.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИОНИНА ПО ОБРАЗОВАНИЮ ГОМОЦИСТЕИНА

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИОДИСТОГО МЕТИЛА И ГОМОЦИСТЕИНА ПО МЕТОДУ БАРНШТЕЙНА [42] [21]

Основы метода. Во время гидролиза белка иодистоводородной кислотой образуются цистеин и тиолактон гомоцистеина. Цистеин можно определить окислением иодом до цистина, кольцо тиолактона гомоцистеина разложить щелочью (NH_4OH) и образовавшийся гомоцистеин, в свою очередь, оттитровать иодом.

Прибор. Такой же, как описан в подразделе А, стр. 211.

Реактивы: натрий тетратионат. Приготовляется каждый раз свежий раствор из 0,1 н. $NaIO_3$, 0,1 н. $Na_2S_2O_3$, небольшого количества KI и соляной кислоты.

Метод. а) Гидролиз. 500 *мг* белка кипятят в течение 6 час. с обратным холодильником с 10 *мл* 57% иодистоводородной кислоты, содержащей 1% KH_2PO_4. Образовавшийся во время

реакции иодистый метил отгоняют слабым током очищенного азота (см. *а*), стр. 211) в ряд последовательно расположенных промывных склянок. Первая промывная склянка содержит 10 *мл* смеси (20% $CdCl_2$ и 20% $BaCl_2$), вторая — 10 *мл* насыщенного раствора сулемы, третья и четвертая — по 10 *мл* 10% раствора уксуснокислого калия в ледяной уксусной кислоте и шесть капель брома. Ток газа начинают пропускать только после того, как выделившийся вначале свободный иод прореагирует с KH_2PO_2. К концу гидролиза отнимают холодильник, продолжая пропускать ток азота, и реакционную смесь концентрируют на голом пламени до 3 *мл*. Следить, чтобы раствор не подгорел.

б) Анализ реакционной смеси. А. Цистеин. Для разрушения иода к реакционной смеси прибавляют 2—3 кристаллика KH_2PO_2 и кипятят 1 мин. Раствор смывают в мерную колбу на 25 *мл* 4% соляной кислотой. После охлаждения раствор доводят до 25 *мл*. 10 *мл* этого раствора наливают в колбу Эрленмейера на 50 *мл*, удаляют воздух насосом и на каждые 4 *мг* цистина добавляют 2 *мл* 0,02 н. KIO_3. Затем прибавляют 1 *мл* растворимого крахмала и титруют иод 0,02 н. $Na_2S_2O_3$. Параллельно проводится контрольный опыт.

1 *мл* 0,02 н. $Na_2S_2O_3$ = 2,40 *мг* цистина.

Б. Гомоцистеин. К реакционной смеси добавляют 2 *мл* $Na_2S_4O_6$ и удаляют воздух насосом. Реакционную колбу соединяют с насосом при помощи резиновой или стеклянной пробки и трехходового крана. После того как из колбы удален воздух, добавляют из бюретки 3,0 *мл* NH_4OH и вновь эвакуируют. Через 15 мин. раствор подкисляют 10 *мл* 10% HCl и оттитровывают гомоцистеин 0,02 н. KIO_3 в атмосфере азота. Одновременно ставят контрольный опыт с реактивами.

1 *мл* 0,02 н. KIO_3 = 2,98 *мг* метионина.

в) Определение летучего иодистого соединения. Жидкость из промывных склянок 3 и 4-й переносят в мерную колбу на 100 *мл*, содержащую 5 *мл* 25% раствора уксуснокислого натрия. Для обесцвечивания брома прибавляют немного муравьиной кислоты (уд. в. 1,20). Раствор перемешивают и доводят до 100 *мл*. Для анализа берут 25 *мл* раствора. Добавляют 1—2 *г* KI, несколько миллилитров 10% H_2SO_4 или HCl и титруют выделившийся иод 0,02 н. $Na_2S_2O_3$. К концу титрования добавляют крахмал.

1 *мл* 0,02 н. $Na_2S_2O_3$ = 0,496 *мг* метионина.

Примечание. Для удаления следов спирта, эфира и т. д. [42] белок предварительно экстрагируют петролейным эфиром и сушат при 105° или же гидролизуют предварительно белок соляной кислотой, упаривают гидролизат досуха и затем обрабатывают иодистоводородной кислотой [43]. Бэйлей [43] при определении метионина по иодистому метилу предлагает пользоваться поправочным коэфициентом — 1,05.

Кассель [357] предлагает внести следующие изменения в метод Барнштейна:

а) Титрование проводится во всей реакционной смеси. Все растворы, содержащие сульфгидрильные группы, сохраняются в атмосфере азота.

б) При определении гомоцистеина добавляют к реакционной среде после разрушения KH_2PO_2 2—3 капли бромтимолсинего, 1 каплю каприлового спирта и 2,5 *мл избытка* свежеприготовленного раствора 0,04 н. $Na_2S_4O_6$. (Смешивают 2 *мл* 0,1 н. KIO_3, 1 *мл* 10% HCl, немного KI и оттитровывают сначала 0,1 н $Na_2S_2O_3$, а под конец — 0,02 н. $Na_2S_2O_3$.)

Затем к колбе присоединяют стеклянную насадку на шлифу с краном, прекращают ток азота, который пропускался во время всех предварительных операций, и создают вакуум с остаточным давлением (20 *мм* ртутного столба). Затем из бюретки, которая соединена с прибором с помощью короткой каучуковой трубки и крана, приливают аммиак до тех пор, пока индикатор не окрасится в синий цвет. После этого прибавляют еще 0,5 *мл* избытка аммиака. Кран закрывают и оставляют реакционную смесь стоять 15 мин. при 40°. Затем прибавляют 10 *мл* 5 н. HCl и титруют гомоцистеин по Барнштейну в токе азота. Предложено вносить следующие поправки при определении метионина: по иодистому метилу — 1,067; по титрованию гомоцистеина — 1,12. Для цистеина — 1,023.

Кун, Биркофер и Квакенбуш [395] видоизменили метод Барнштейна следующим образом. Перед промывными склянками, устанавливаемыми по Барнштейну, ставится еще одна для улавливания иода. Она содержит 1 *мл* 1% суспензии красного фосфора в 9 *мл* воды. После конца реакции содержимое третьей промывной склянки (насыщенный раствор сулемы) обрабатывают избытком $^1/_{250}$ н. раствора иода и 0,5 *мл* 2 н. HCl. Спустя 30 мин. избыток иода оттитровывают $^1/_{250}$ н. раствором $Na_2S_2O_3$ для определения количества сероводорода, выделившегося во время гидролиза.

Кун и сотрудники [395] советуют перегонять HI над KH_2PO_2 в атмосфере азота. Приготовляют еженедельно свежую иодистоводородную кислоту и хранят с 1% KH_2PO_2. Авторы нашли, что метионин образует 94% иодистого метила от теоретического.

Б. ГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД БИЧА [58]

Основы метода. Белок гидролизуют иодистоводородной кислотой. Среди других аминокислот гидролизат содержит цистеин и тиолактон гомоцистеина. Цистеин осаждается закисью меди (Гопкинс), тиолактон гомоцистеина остается в растворе.

Реактивы: иодистоводородную кислоту, хранившуюся над KH_2PO_2, перегоняют перед употреблением.

Приготовляют хлористое серебро прибавлением разбавленной HCl к раствору серебряной соли молочной кислоты. Осадок следует сохранять влажным в темноте.

Цитратный буфер. 12 *г* лимоннокислого натрия и 15 *г* лимонной кислоты растворяют в 200 *мл* воды. Затем добавляют 20 *мл* ледяной уксусной кислоты и перед употреблением разбавляют 9 объемами воды.

Метод. а) Гидролиз. 0,5—1,0 *г* белка (6 *мг* метионина) гидролизуют 18 час. с 25 *мл* концентрированной HI в атмосфере азота. Избыток HI удаляют отгонкой в вакууме. Прибавление нескольких миллилитров разбавленной соляной кислоты способствует удалению избытка HI.

б) Удаление HI. Гидролизат (объем 50 *мл*) переносят в центрифужный стакан на 250 *мл*, добавляют избыток суспензии AgCl и взбалтывают, чтобы обеспечить полноту удаления HI. Осадок центрифугируют, промывают дважды водой и фильтруют. Фильтрат упаривают до густого сиропа и разбавляют остаток до 50 *мл*.

в) Определение цистеина. К 25 *мл* гидролизата прибавляют 1 *мл* 20% HCl и 300 *мг* цинковой пыли. Через 2 часа раствор фильтруют и доводят pH до 4—5 добавлением насыщенного раствора уксуснокислого натрия. Затем при механическом перемешивании вносят суспензию закиси меди в небольшом избытке. Реакционную смесь перемешивают еще 30 мин., центрифугируют и промывают осадок 3 раза цитратноацетатным буфером по 30 *мл* каждый раз. Высчитывают содержание цистина по определению серы в осадке меркаптида.

$$1 \text{ мг } BaSO_4 = 0{,}515 \text{ мг цистина.}$$

г) Определение метионина. Оставшуюся часть гидролизата нейтрализуют 5 н. раствором NaOH и добавляют 1 *мл* избытка щелочи. Через 15 мин. вносят 2 *мл* 20% HCl и 300 *мг* цинковой пыли и оставляют стоять ночь. Затем реакционную смесь нагревают на паровой бане в течение 2 час. и удаляют избыток цинка декантацией. К раствору, нагретому до 60°, добавляют небольшой избыток суспензии Cu_2O, перемешивают в течение 15 сек. и центрифугируют выпавшие меркаптиды. Осадок промывают цитратно-ацетатным буфером.

Так как при этом методе осаждаются и цистеин и гомоцистеин, то расчет метионина ведут по нецистеиновой сере.

1 *мг* $BaSO_4$ = 0,709 *мг* метионина (испр.).

Примечание. По Бичу и Тигу [58], цистин определяется на 80—100%, а метионин — на 87—92%. Они предлагают вносить поправку к полученным данным для метионина, пользуясь фактором — 1,11.

Авторы полагают, что этот метод можно упростить и сделать более быстрым, если внести в него ряд изменений, основанных на наблюдениях Россова и Уилкен — Джордэна и Циттль и О'Дэлла. Если бы цистин определялся каким-нибудь другим методом, то тогда по определению азота можно было бы с достаточной степенью точности рассчитать содержание метионина, потому что всякий немеркаптидный азот присутствовал бы в обоих осадках в равных количествах и уничтожал бы ошибку.

В. ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ШТЕРНА И БИЧА [591]

Основы метода. Если раствор не содержит цистина, цистеина или подобных серусодержащих соединений, то гомоцистин или гомоцистеин можно определить в растворе 0,1 н. NH_4OH, 0,1 н. NH_4Cl и 10^{-2} мол. растворе $CoCl_2$ с помощью полярографа Гейровского. В противном случае с помощью полярографа определяется сумма цистина и гомоцистеина (см. стр. 207, подраздел 8).

* 3. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИОНИНА (МАК-КАРТИ И САЛЛИВАН [444])

Основы метода. Метионин дает с нитропруссидом натрия окрашенное соединение.

Реактивы. 14,3 н. NaOH. Растворяют 57,2 *г* NaOH в воде и разбавляют до 100 *мл*.

Смесь HCl — H_3PO_4. Смешивают 9 объемов концентрированной HCl с 1 объемом 85% H_3PO_4.

Метод. а) Гидролиз. 500 *мг* белка гидролизуют 2 *мл* 20% HCl на масляной бане при 125° в течение 2—24 час. После разбавления гидролизат обесцвечивают 50 *мг* активированного угля (Carbex E). Уголь промывают сначала 5 *мл* горячей, затем 5 *мл* холодной 1 н. соляной кислоты. Фильтрат и промывные воды доводят до pH 3,5 прибавлением 5 н. NaOH и разбавляют раствор до 50 *мл* 0,1 н. соляной кислотой.

б) Определение. К 5 *мл* испытуемого раствора прибавляют последовательно и при перемешивании следующие растворы: 1 *мл* 14,3 н. NaOH, 1 *мл* 1% раствора гликоколя, 0,3 *мл* свежеприготовленного 10% раствора нитропруссида натрия. Пробирку

с реакционной смесью ставят на 5—10 мин. в водяную баню, нагретую до 35—40°. Затем охлаждают 2 мин. в ледяной воде и прибавляют при перемешивании 5 *мл* смеси $HCl—H_3PO_4$. Взбалтывают еще одну минуту и охлаждают водой при комнатной температуре в течение 5—10 мин. Измерения производят со стандартом, приготовленным подобным же образом или по стандартной кривой. Светофильтр 540 μ.

Примечание. Цистин, цистеин, гомоцистин и другие аминокислоты, обычно встречающиеся в белковых гидролизатах, за исключением триптофана, не дают этой реакции. Но триптофан разрушается во время кислотного гидролиза. Хотя развивающаяся окраска и не подчиняется закону Бера, все же эта реакция протекает количественно в пределах от 25 до 200 миллипроцентов метионина. Этот простой и точный метод (если его тщательно проводить) дал прекрасные результаты в работе авторов.

4. ИОДОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ МЕТИОНИНА (ЛЕВАЙН [407, 408])

Основы метода. К раствору, содержащему метионин, прибавляют избыток иода. Оставшийся после реакции свободный иод полностью удаляют $Na_2S_2O_3$, раствор подкисляют и освобождают иод, связанный с метионином.

$$CH_3S \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} \cdot COOH \xrightarrow[I_2]{pH\ 7-9} (CH_3 \cdot \underset{\displaystyle I}{\underset{\|}{S}} - R)^{+}I^{-} \xrightarrow{\text{кислота}} CH_3SR + I_2$$

Реактивы: фосфатный буфер. 7 частей мол. раствора K_2HPO_4 и 3 части мол. раствора KH_2PO_4.

Метод. а) «Контрольный опыт». Смешивают 5 *мл* нейтрализованного исследуемого раствора (0,125 миллимолей метионина) с 1 *мл* 6 н. HCl и 3,8 *мл* 0,1 н. раствора KIO_3 и оставляют стоять на 20 мин. Затем добавляют 1 *мл* 5 мол. раствора KI и смесь, состоящую из 4 *мл* 5 мол. раствора KI, 3 *мл* 2 н. NaOH, 5 *мл* буфера и 3 *мл* воды. Через 20 мин. оттитровывают иод 0,025 н. раствором $Na_2S_2O_3$.

б) Определение. Опыт начинают 10 мин. спустя после постановки контрольного опыта. К 5 *мл* исследуемого нейтрального раствора прибавляют последовательно при перемешивании 5 *мл* буфера, 5 *мл* мол. раствора KI, 7 *мл* воды и 3,2 *мл* 0,1 н. раствора иода. Через 20 мин. избыток иода удаляют гипосульфитом, прибавляют 4—5 *мл* 2 н. HCl и оттитровывают выделившийся иод 0,025 н. $Na_2S_2O_3$.

$$1 \text{ моль } I_2 = 1 \text{ молю метионина.}$$

Примечание. Чтобы концентрация иода в контрольном опыте соответствовала содержанию его в испытуемом растворе, следует добавить перед конечным титрованием 0,025 н. раствором $Na_2S_2O_3$ несколько капель 0,2 мол. $NaHSO_3$.

Левайн [408] указывает, что в некоторых случаях можно пренебречь контрольным опытом. Обычно гидролизат следует обесцвечивать активированным углем (1 : 10).

5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТИЛМЕРКАПТАНА ПО МЕТОДУ ТУТИЙА [623]

Основы метода. Метионин сплавляют с NaOH. При этом образуется CH_3SH (метилмеркаптан), который перегоняют током воздуха в раствор изатина. Образующееся при этом соединение, окрашенное в зеленый цвет, колориметрируют.

Реактивы: изатин. 10—20 *мг* изатина растворяют в 100 *мл* концентрированной H_2SO_4.

Метод. Сплавляют в течение 1—2 мин. 0,2—100 *мг* метионина с 450—750 *мг* NaOH в небольшом количестве воды. Затем подкисляют сплав разбавленной соляной кислотой. Выделившийся из цистина сероводород и из метионина CH_3SH отгоняют током воздуха сначала в раствор уксуснокислого свинца для связывания сероводорода и затем — в раствор изатина в серной кислоте. Раствор окрашивается в зеленый цвет.

Примечание. Тутийа [623] утверждает, что другие аминокислоты и углеводы дают в этих условиях отрицательную реакцию, а смесь цистина и бетаина — положительную.

Раздел 4

СЕРА И СЕРУСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ В БЕЛКАХ

Все количества, приведенные в последующих таблицах, расчитаны на 16,0% азота в белке. В тех случаях, когда авторы не приводят данных по азоту, содержание аминокислот высчитано по азоту, указанному в скобках. Если исследователи приводят данные аминокислот в процентах от общего азота, то все результаты пересчитываются на 16,0% и процент азота не приводится.

Расчет средней и удвоенной средней ошибки и понятие о наиболее правильных результатах см. гл. I, раздел 7.

Под заголовком «Метод» приводятся основные способы, применяемые для определения или расчета цистина и метионина. Так как методы определения серы однотипны, то они в таблицах не фигурируют. В связи с тем, что при определении серы по методу

Бенедикт — Дени получаются заниженные результаты (Пэйнтер, [509]), они в таблицах не приводятся.

В одном случае авторы отклонились от принятой ими системы обозначения методов по имени их основоположника. Восстановительное действие цистеина на фосфорновольфрамовую кислоту с образованием синей окраски, впервые обнаруженное Винтерштейном, в согласии с общепринятыми обозначается как метод Фолина.

АЛЬБУМИНОИДЫ

Серусодержащие аминокислоты в *желатине, эластине* и *родственных белках*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Желатина	Газометрический	Барнштейн — 39	(16,0)		0,0	
Желатина	Фолин	Барнштейн — 39	(16,0)		0,2	
Желатина	Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(16,0)		0,1	
Желатина	Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(16,0)	0,47	0,2	1,0
Желатина	Гопкинс-Бич	Бич — 58	16,7	0,36	0,0	0,7
Желатина	Фолин	Фолин — 231	(16,0)		0,2	
Желатина	Фолин	Джонс — 342	(16,0)		0,2	
Эластин	Фолин-Барнштейн	Штайн — 586	17,1	0,16	0,2	0,4
Нейрожелатина	Фолин	Не опубликовано	14,7	1,6	0,0	
Желатина из рыбы	Флеминг-Мак-Карти	Не опубликовано	11,8			1,5

Альбуминоиды

Низкое содержание серусодержащих аминокислот в белках соединительной ткани общеизвестно. Хотя в желатине и мало метионина, тем не менее ее нельзя отнести к числу белков, лишенных этой существенно необходимой аминокислоты, как это часто полагают. К тому же не следует забывать, что состав желатины зависит от источника и метода ее приготовления.

БЕЛКИ ЖИВОТНЫХ

Серусодержащие аминокислоты в *животных* *

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Крыса взрослая	Фолин	Не опубликовано	11,7		1,3		6 препаратов
Крыса — возраст 1 день	Флеминг, высчитано	Не опубликовано	13,3	0,9	1,3	2,3	
Крыса — возраст 23 дня	Флеминг, высчитано	Не опубликовано	11,1	1,1	1,7	3	
Крыса — возраст 100 дней	Флеминг, высчитано	Не опубликовано	13,4	1,2	1,4	3	
Крыса — возраст 18 мес.	Флеминг, высчитано	Не опубликовано	12,2	1,3	2,0	3	
Крыса взрослая	Фолин	Не опубликовано	13,1	1,3	1,2		а
Крыса взрослая	Фолин	Рош — 548	16,3	0,95	3,5		а
Крыса взрослая	Фолин	Рош — 548	16,7	0,93	3,4		б
Крыса взрослая	Фолин	Рош — 548	15,8	0,91	3,3		
Цыпленок, эмбрион	Фолин	Колвери — 141	15,0		2,8		

[а] Белковое истощение.
[б] Общее истощение.
* В процентах к общему весу животного. (*Прим. перев.*)

Белки животных

Расхождения в содержании цистина, установленные Рошем и авторами, можно приписать разным методам определения. Так, по методу Фолина в некоторых случаях получаются повышенные результаты. С другой стороны, расхождения можно было бы объяснить и действительными колебаниями в аминокислотном составе исследованных животных. Вопрос о цистине сразу наводит на мысль о волосе. Однако данные по содержанию общей серы исключают второе предположение. По мнению авторов, тело крысы в целом содержит около 2 процентов цистина или менее, так как если бы полученные Рошем данные были верны, то почти всю общую серу относили бы к сере цистина.

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *фибрине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, г	Цистин, %	Метионин, %
	Газометрический	Барнштейн — 39	(17,7)		1,3	
	Фолин	Барнштейн — 39	(17,7)		3,2	
	Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(17,7)		1,3	
	Газометрический	Барнштейн — 41	(17,7)	0,88	1,5	2,2 *
	Фолин	Джонс — 342	(17,7)		3,4	
	Гопкинс-Викери	Викери — 652	(17,7)		1,4	
Бык	Шульц	Цанд — 695	(17,7)		1,5*	
Бык	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано			1,9	2,6
	Среднее				1,9	

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *гемоглобинах*

Высчитано на 16,0% азота

Гемоглобин	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Лошадь	Барнштейн	Кун — 395	(16,7)	0,41*	0,7 *	1,0
Лошадь	Шульц	Шульц — 573	(16,7)		0,4	
Лошадь	Гопкинс-Викери	Викери — 652	(16,7)		0,4	
Лошадь	Гопкинс-Викери	Викери — 653	16,7	0,37	0,7	
Лошадь	Шульц	Цанд — 695	(16,7)		0,5	
Крупный рог. скот	Гопкинс	Бергман — 67	17,0			
Крупный рог. скот	Высчитано	Блок — 94	16,1			1,4
Овца	Высчитано	Блок — 94	16,8			2,8
Овца	Гопкинс-Викери	Викери — 653	16,8	0,70	0,6	
Собака	Барнштейн	Кун — 395	(16,4)			0,5
Собака	Гопкинс-Викери	Викери — 653	16,5	0,55	1,1	
Черепаха	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,5	0,9	0,6	3
Свинья	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,0	0,5	0,4	2

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *глобулинах*

Высчитано на 16,0% азота

Глобин	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Лошадь	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 56	16,4	0,39	0,8	0,7
Лошадь	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,4)		0,8	0,9
Лошадь	Барнштейн	Кун — 395	(16,4)			1,0
Лошадь	Фолин	Рош — 550	16,8	0,49	0,7	
Лошадь	Брдичка	Штерн — 590	16,4		0,8	
Лошадь	Шульц	Шульц — 573	16,4	0,41	0,8	
Крупный рог. скот	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 56	15,7	0,44	0,4	1,3
Крупный рог. скот	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(15,7)		0,6	1,8
Крупный рог. скот	Фолин	Рош — 550	16,6	0,50	0,6	
Крупный рог. скот	Брдичка	Штерн — 590	15,7		0,4	
Человек	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 56	16,6	0,58	1,2	1,2
Человек	Гопкинс-Бич	Бич — 58	16,7	0,65	1,2	1,5
Человек	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,6)		1,3	1,5
Человек	Флеминг-Вессель	Не опубликовано	16,2	0,6	0,8	
Человек	Фолин	Рош — 550	16,7	0,68	0,8	
Человек	Брдичка	Штерн — 590	16,6		1,1	
Обезьяна	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,6)		1,2	1,3
Собака	Барнштейн	Кун — 395	(16,8)			0,5
Собака	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,0)		1,8	0,6
Собака	Фолин	Рош — 550	16,6	0,51	0,8	
Лиса	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,0)		1,7	0,6
Шакал	Барнштейн	Бирк-гофер — 75	(16,0)		1,6	0,6
Свинья	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 56	16,5	0,36	0,8	0,7
Свинья	Фолин	Рош — 550	16,3	0,54	0,7	

Продолжение

Глобин	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Морская свинка	Фолин	Рош — 550	16,7	0,60	0,8	
Овца	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 56	16,1	0,56	0,8	1,2
Овца	Фолин	Рош — 550	16,8	0,53	0,8	
Овца	Брдичка	Штерн — 590	16,1		0,7	

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *серумальбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Лошадь?	Газометрический	Барнштейн — 39	(16,0)		3,9	
Лошадь?	Фолин	Барнштейн — 39	(16,0)		6,0	
Лошадь?	Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(16,0)		1,6	
Лошадь	Фолин-Барнштейн	Бранд — 126	15,9	1,69	6,3	0,0
Лошадь?	Брдичка	Брдичка — 131	(16,0)		3,4	
Лошадь?	Фолин	Фолин — 234	(16,0)		6,1	
Лошадь — фракция А	Фолин	Хьюит — 297			6,5*	
Лошадь — фракция Н	Фолин	Хьюит — 297			2,0*	
Лошадь		Мёрнер — 463	(16,0)	1,29		
Лошадь	Фолин	Райнер — 543			5,9	
Лошадь (кристалл.)	Шульц	Шульц — 573	(16,0)	1,89	4,8	
Лошадь?	Салливан	Салливан — 596	(16,0)		5,7	
Лошадь?	Гопкинс	Циттль — 698	(16,0)		5,9	
Лошадь?	Гопкинс-Салливан	Циттль — 698	(16,0)		5,7	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Крупный рог. скот	Фолин	Райнер — 543			4,0	
Человек	Фолин	Олвинг — 30	14,6		5,7	
Человек (Na_2SO_4)	Фолин	Балинт — 46	16,0		5,0 ± ±0,3*	
Человек (Na_2SO_4)	Салливан	Мюрриль — 469	13,5		4,8	
Человек	Фолин	Райнер — 543			6,0	
Человек	Фолин	Тэчмэн — 621	(16,0)		6,1 ± ± 1,1	

* „Наиболее правильные данные".

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *серумглобулине*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Лошадь?	Брдичка	Брдичка — 131	(16,0)		1,6	
Лошадь[a]	Фолин, высчитано	Колвери — 144	15,9	1,3	3,1	2
Лошадь[б]	Фолин, высчитано	Колвери — 145	(16,0)	1,3	2,6	3
Лошадь?		Мёрнер — 463	(16,0)	0,67		
Лошадь	Фолин	Райнер — 543			3,4	
Лошадь	Шульц	Шульц — 573	(16,0)		2,4	
Лошадь	Салливан	Салливан — 598	(16,0)		1,9	
Крупный рог. скот	Фолин	Райнер — 543			2,9	
Человек	Фолин	Олвинг — 30	14,6		2,4	
Человек	Салливан	Олвинг — 30	14,6		2,0	
Человек	Мёрнер-Окуда	Олвинг — 30	14,6		2,1	
Человек ($NaSO_4$)	Фолин	Балинт — 46	16,0		2,5 ± ±0,3*	
Человек (Na_2SO_4)	Салливан	Мюрриль — 469	14,0		3,4	
Человек	Фолин	Райнер — 543			3,5	
Человек	Фолин	Тэчмэн — 621	(16,0)		3,6 ± ± 0,8	

* „Наиболее правильные данные".

а Pneumococcus precipitate Type II.

б „ „ Type I.

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках сыворотки*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Человек	Фолин	Балинт — 46	16,0		3,5 ± ± 0,4	
Человек	Фолин	Блок — 105	14,9	1,57	3,9	
Человек	Фолин, высчитано	Блок — 110	15,4	1,34	3,4	2,0
Человек	Фолин, высчитано	Блок — 110	15,2	1,34	3,4	2,0
Человек	Салливан, высчитано	Мюрриль — 469	14,3	1,62	4,3	2,2
Человек	Фолин	Тэчмэн — 621	(16,0)		4,8 ± ± 0,6	
Человек (миэлома)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	14,1	1,2	2,9	2
Человек (phenyl-pyruvic)	Фолин	Блок — 105	14,9	1,55	3,2	
Человек (нефрит)	Салливан, высчитано	Мюрриль — 469	14,7	1,62	4,2	2,3
Собака	Салливан	Мюрриль — 470	12,2	1,17	3,3	
Собака (запасн. белок)	Салливан	Мюрриль — 470	11,6	1,15	3,2	
Собака (регенер. белок)	Салливан	Мюрриль — 470	14,4	1,20	3,1	
Собака (диэта с казеином)	Салливан	Мюрриль — 470	12,7	1,11	3,1	
Собака (диэта с лакт-альбум.)	Салливан	Мюрриль — 470	12,2	1,14	3,1	
Собака (диэта с сывороткой быка)	Салливан	Мюрриль — 470	14,1	1,34	3,3	
Собака (диэта с дрожж.)	Салливан	Мюрриль — 470	14,2	1,19	3,1	
Крупный рог. скот?	Гопкинс-Граф	Граф — 264			3,6	
Среднее и 2 × S. E.				1,32 ± ± 0,10	3,6 ± ± 0,1	2,1

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках мочи*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Бенс-Джонса	Фолин, высчитано	Колвери — 143	18,0	0,89	2,7	0,8
Бенс-Джонса	Барнштейн	Девайн — 195	14,7	1,46	3,2	0,6
Бенс-Джонса	Фолин	Фолин — 231	(16,0)		3,5	
Бенс-Джонса		Гопкинс — 308	16,2	1,17		
Нефрит	Салливан	Мюрриль — 469	15,1	1,86	5,9	

БЕЛКИ КРОВИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках стромы*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Овца	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	14,0	0,86	1,1	2,4
Лошадь	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	12,9	0,89	1,1	2,4
Боров	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	13,1	0,87	1,4	2,1
Бык	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	13,8	0,82	0,9	1,7
Бык	Гопкинс	Эриксон — 213	13,8		1,0	
Бык, эмбрион	Гопкинс	Эриксон — 213	13,7		1,4	
Человек	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	13,0	0,88	1,1	2,2
Человек [а]	Гопкинс	Эриксон — 213	13,1		1,4	
Человек [б]	Гопкинс	Эриксон — 213	13,7		1,3	

[а] Polycythemia vera.

[б] Polycythemia cardiac.

Белки крови

Гемоглобины и глобины. Абсолютное содержание серы, цистина и метионина в глобинах и гемоглобинах различных животных, а также их относительные количества сильно отличаются друг от друга. Эти относительно большие различия в содержании цистина и метионина в глобинах представляют контраст с относительно малыми колебаниями в содержании аргинина, гистидина, лизина, триптофана, тирозина и фенилаланина.

Серумальбумины. Как уже указывалось, состав всякой фракции серумальбумина, даже гомогенной кристаллической, зависит от метода приготовления. Приведенные в литературе данные можно использовать только с большой осторожностью для расчета молекулярного веса, определения связывания кислот и оснований и т. д. Необходимо, чтобы идентичность анализированных фракций сыворотки и фракций, подвергавшихся физико-химическим исследованиям, была доказана с помощью правила фаз и т. д. В новейшей литературе приведено большое число подобных расчетов, в которых эти условия не были приняты во внимание. Поэтому эти результаты могут ввести неспециалиста в заблуждение.

Серумглобулины. Глобулины представляют еще менее однородные белки, чем альбумины. Однако несомненно, что глобулины сыворотки содержат примерно вдвое или втрое меньше цистина, чем альбумины сыворотки.

Белки сыворотки. Изучение аминокислотного состава суммы белков сыворотки здорового и больного организма является наилучшим путем для определения изменений белков, связанных с патологическими процессами. Белки сыворотки больного множественной миэломой содержат меньше цистина, чем белки крови здорового человека. Это связано, вероятно, с практически полным исчезновением альбумина сыворотки.

Белки мочи. Понижение содержания серумальбумина у больных множественной миэломой выражено даже более резко, чем при нефрите. Однако белок Бенс-Джонса, в отличие от белков мочи, при заболевании нефритом содержит относительно меньшее количество цистина.

Белки стромы. Белки стромы различных животных, повидимому, не отличаются друг от друга по содержанию серы и цистина. Это является противоположностью тому, что найдено в глобинах.

БЕЛКИ МОЗГА

Серусодержащие аминокислоты в *белках мозга* (см. 59, 89, 105, 354 и неопубликованные данные)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Человек, мужчина	Фолин, высчитано	13,9	1,2	2,1	3	17 случ.
Человек, женщина	Фолин, высчитано	13,8	1,2	2,1	3	6 случ.
Обезьяна, самец	Фолин	14,2		2,0		6 случ.
Обезьяна, самка	Фолин	14,5		2,1		8 случ.
Баран	Фолин	13,7		2,0		7 случ.
Овца	Фолин	14,3		1,9		4 случ.
Крыса	Фолин	14,5		2,1		5 случ.
Морская свинка	Фолин	13,8		1,6		2 случ.
Крупн. рог. скот	Фолин	14,2		2,2		2 случ.
Крупн. рог. скот	Гопкинс-Мак-Карти		1,03	2,0	3,0	
Свинья	Фолин	15,4		1,9		2 случ.
Кролик	Фолин	12,8		2,2		2 случ.
Кошка	Фолин, Мёрнер	15,2		1,4		(354)
Собака	Фолин, Мёрнер	15,1		1,4		(354)
Лягушка	Фолин, Мёрнер	15,3		1,2		(354)
Овца	Фолин, Мёрнер	15,2		1,4		(354)
Среднее и 2 × S. E.				1,8 ± 0,2		

БЕЛКИ ЯЙЦА

Серусодержащие аминокислоты в *кристаллическом яичном альбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Газометрический	Барнштейн — 39	(15,4)		1,6	
Фолин	Барнштейн — 39	(15,4)		1,3	
Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(15,4)	1,66	2,4	4,8
Барнштейн — иодный	Барнштейн — 42	(15,4)			5,3

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Барнштейн — титрование	Барнштейн — 42	(15,4)			4,7
Фолин	Не опубликовано	13,9	1,8	2,4	
Брдичка	Брдичка — 131	(15,4)		2,1	
Фолин	Колвери — 139	(15,4)		1,4	
Фолин	Фолин — 234	(15,4)		1,3	
Гефтер-Гетри	Гетри — 275	(15,4)		1,3 [a]	
Геллерман	Геллерман — 288	(15,4)		1,4	
Салливан	Гесс — 291	(15,4)		1,3	
Фолин	Джонс — 342	(15,4)		0,9	
Барнштейн	Кассель — 357	14,9	1,94	1,9	5,6 *
Барнштейн	Кун — 395	(15,4)		1,9	5,0
Левайн	Левайн — 408	(15,4)			4,8
Шульц	Шульц — 573	(15,4)	1,18	1,8 *	
Салливан	Салливан — 596	(15,4)		1,3	
Фолин	Томпсетт — 615	(15,4)		2,3	
Барнштейн	Виртанен — 663	12,1			4,8
Шульц	Цанд — 695	(15,4)		1,7	
Среднее и 2 × S. E.			1,65	1,7—0,2	5,0—0,3

* „Наиболее правильные данные".
[a] 0,6% цистеина.

БЕЛКИ ЯЙЦА

Серусодержащие аминокислоты в *протеинах яйца* (кроме яичного альбумина)

Высчитано на 16,0% азота

Протеин	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Яичный белок	Газометрический	Барнштейн — 39	(15,0)		2,2	
Яичный белок	Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(15,0)		2,1	
Яичный белок	Гопкинс-Бич	Бич — 58	15,0	1,9	3,2	4,4
Яичный белок	Фолин	Не опубликовано	14,8	1,8	2,6	

Продолжение

Протеин	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Яичный белок		Блюменталь — 111	(15,0)	1,7		
Яичный белок	Фолин	Колвери — 141	(15,0)		1,8	
Яичный белок	Гопкинс-Граф	Граф — 264			2,8	
Яичный белок	Фолин	Мак-Фарлен — 448	15,2		2,3	
Среднее и 2×S. E.				1,8	2,3±0,4	4,4
Яичный желток	Фолин, высчитано	Не опубликовано	14,6	1,2	1,9	3
Яичный желток	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,0	1,0	1,9	2—3
Яичный желток	Фолин	Колвери — 141	(15,0)		1,4	
Яичный желток	Фолин	Мак-Фарлен — 448	15,2		2,3	
Целое яйцо	Фолин, высчитано	Не опубликовано	14,1	1,5	2,4	4
Кональбумин	Фолин	Джонс — 342	(15,4)		3,5	
Вителин	Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(15,0)			2,9
Вителин	Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(15,0)			2,8
Вителин	Фолин	Джонс — 342	16,3		0,8	
Вителин	Фолин	Колвери — 140	15,0	1,0	1,3	
Вителин	Салливан	Джюкс — 347			1,2	
Вителин	Барнштейн	Кун — 395	(16,0)		1,8	3,1
Ливитин	Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(15,5)			2,4
Ливитин	Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(15,5)		—	2,4
Ливитин	Салливан	Джюкс — 347	14,8		2,5	
Ливитин	Фолин	Джюкс — 348	15,5		3,6	
Овомукоид	Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(13,5)			1,7
Овомукоид	Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(13,5)			1,6
Овомукоид	Фолин	Мак-Фарлен — 448	13,5	2,7	6,2	

Белки яйца

Шульц [573] был первым, который в 1898 г. отметил, что при действии на яичный альбумин щелочного раствора уксуснокислого свинца отщепляется сравнительно небольшая часть общей серы белка. Он оправдывает этот низкий выход тем, что находившееся в его распоряжении количество кристаллического яичного альбумина было достаточно только для одного определения. Тем более интересно отметить, что эти данные по лабильной сере при пересчете совпадают с наиболее точными величинами для цистина в современной литературе.

Высокое содержание серы в протеинах яйца, особенно в протеинах яичного белка, известно уже давно.

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ И КОРМА

Серусодержащие аминокислоты в *кормах* и в *пищевых продуктах*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Хлеб	Фолин, высчитано	Не опубликовано	11,2	1,1	2,2	2—3	6% сух. вещ. молока
Хлеб	Фолин, высчитано	Не опубликовано	11,3	1,2	2,0	3	6% сух. вещ. молока
Мука	Фолин, высчитано	Не опубликовано	12,8	1,1	1,9	3	5 образцов
Злаки *	Флеминг-Фолин	Не опубликовано		1,0	1,2		Wheatena
Злаки	Флеминг-Фолин	Не опубликовано	12,3	1,4	1,8		Ralston
Злаки	Флеминг-Фолин	Не опубликовано		1,3	1,5		Cream Farina
Злаки	Флеминг-Фолин	Не опубликовано	13,6	1,1	1,7		Cream of wheat
Злаки	Флеминг-Фолин	Не опубликовано	13,8	1,1	1,4		New cream of wheat
Злаки	Флеминг-Фолин	Не опубликовано		1,1	0,7		„Puffed Sparkies"
Злаки	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано			0,7	1,6	„Cerevim"
Льняная мука (семя высуш.)	Фолин, высчитано	Не опубликовано		1,1	1,9	3	
Мука из листьев люцерны	Фолин-Флеминг	Не опубликовано	10,6	1,3	1,4		

* Cereal.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Соевая мука	Фолин	Не опубликовано			1,3		
Соевая мука	Мак-Карти-Салливан	Олмквист—29				2,0	
Льняная мука (натур. семя)	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано			1,9	2,3	
Мука земл. ореха	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано	10,4		1,6	0,9	
Мука хлопк. семени	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано	10,9		2,0	1,6	Proflo
Мясные отходы	Фолин, высчитано	Не опубликовано		1,1	1,0	3	
Мука из сельди менхеден	Фолин, высчитано	Не опубликовано	11,6	0,9	1,0	3	
Мука из пикши	Фолин	Поттингер — 526			1,1		
Мясные отходы	Фолин, высчитано	Не опубликовано	10,6	0,8	0,9	3	

Пищевые продукты и корма

Злаки. Следует отметить вредное, повидимому, действие «puffing» на содержание цистина.

Мука земляного ореха. Из анализов арахина следует, что из всех изученных до настоящего времени белков (за исключением желатины и шерсти) белки муки земляного ореха отличаются наиболее низким содержанием метионина.

ГОРМОНЫ И ЭНЗИМЫ

Серусодержащие аминокислоты в *гормонах и энзимах, не содержащих металлов*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Инсулин	Барнштейн	Кун — 395	15,7		12,2	0,6	
Инсулин	Фолин-Барнштейн	Миллер — 455	15,5	3,45	12,9 ± ±0,4*	0,0 *	

Продолжение.

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Инсулин	Брдичка	Салливан — 600	(15,7)		12,9—13,6		
Инсулин	Салливан	Салливан — 600	(15,7)		11,8—12,8		
Инсулин	Флеминг-Вассель	Вассель — 641	(15,7)		10,8		
Инсулин	Флеминг-Вассель	Вассель — 641	(15,7)		10,3		
Инсулин	Барнштейн	дю Виньо—660	15,7		12,4	0,0	
Пепсин	Фолин	Колвери —146	15,4		1,5		
Пепсин	Фолин	Колвери —146	15,2		1,3		коагул. нагрев.
Пепсин	Фолин	Колвери —146	15,4		2,3		горячее фильтр.
Тиреоглобулин	Барнштейн	Бранд — 122	(15,8)	1,47	4,4	1,3	
Тиреоглобулин	Фолин	Экштайн—202			1,6		
Химотрипсиноген	Салливан-Барнштейн	Бранд — 125	16,2	2,1	4,5	1,2	
Лактогенный гормон гипофиза		Ли — 419	(16,0)		3,0		
Окситотический гормон задн. доли гипофиза	Салливан	Поттс — 528	(16,0)	5,59	18,3		
Прессорн. гормон задней доли гипофиза	Салливан	Поттс — 528	(16,0)		19,0		
Rous Sarcoma	Фолин-Флеминг	Не опубликовано	14,6		5,2		
Секретин	Салливан	Агрен — 25	14,4	0,8	0,0		
Инсулин	Фолин	дю Виньо—660	15,7		13,1		
Инсулин	Салливан	дю Виньо—660	15,7		8,4		

* „Наиболее правильные данные".

Животные гормоны и энзимы

Инсулин. Интересно, что инсулин отличается относительно высоким содержанием цистина и не содержит метионина, так же как из ароматических аминокислот в нем преобладает тирозин и совсем нет триптофана.

Прессорный и окситотический гормоны задней доли гипофиза. Эти биологически активные вещества характеризуются высоким содержанием цистина.

КЕРАТИНЫ

Серусодержащие аминокислоты в *волосах человека*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	
Фолин	Блок — 97	15,4	5,2	16,1	
Фолин	Блок — 109	16,6	4,7	15,0	
Брдичка	Брдичка — 131	(16,6)		17,0	шатен
Брдичка	Брдичка — 131	(16,6)		17,2	блондин
Брдичка	Брдичка — 131	(16,6)		16,4	ребенок
Брдичка	Брдичка — 131	(16,6)		13,6	рыжий
Фолин	Клей — 166	15,5	5,47	17,40	мужчина
Салливан	Клей — 166	15,5		15,3	мужчина
Фолин	Клей — 166	15,4	5,47	16,2	женщина
Салливан	Клей — 166	15,4		14,1	женщина
Салливан	Клей — 166				0,5% цистеина
Фолин	Фолин — 231	(16,6)		15,9	
Салливан	Льюис — 418	17,3		14,8 ± 1,2	
Выделение	Мёрнер — 463	(16,6)	3,92	13,4	
Фолин	Уильсон — 681	15,4		19,6	дети
Фолин	Уильсон — 681	15,4		18,3	взрослые
Среднее и 2 × S. E.				15,9 ± 0,9	

КЕРАТИНЫ

Серусодержащие аминокислоты в *шерсти овцы*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Выделение	Абдергальден — 16	(16,6)		7,0	
Газометрический	Барнштейн — 39	(16,6)		9,9	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Фолин	Барнштейн — 39	(16,6)		7,5	
Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(16,6)		8,8	
Салливан-Барнштейн	Бэйлей — 43	16,3	3,56	12,3	0,6
Фолин	Бэйлей — 43	16,3		12,3	
Салливан-Барнштейн	Бэйлей — 43	16,2	3,69	11,5	0,6
Фолин	Бэйлей — 43	16,2		11,6	
Барнштейн	Баррит — 52	16,6	2,9—3,8		0,5 ± 0,1
Фолин	Блок — 77	16,6	4,38	9,6	
Фолин, высчитано	Блок — 97	15,4	3,7	13,6	0,5
	Блюменталь — 111	(16,6)	3,0		
Брдичка	Брдичка — 131	(16,6)		9,3	
Фолин	Фолин — 231	(16,6)		7,5	
Салливан	Гордон — 261			10,8	
Мёрнер-Окуда	Гесс — 293	(16,6)		13,4	
Гопкинс-Граф	Граф — 264			9,6	
Салливан	Гесс — 293	(16,6)		13,1	
Фолин-Шинохара	Гесс — 293	(16,6)		13,6	
Фолин-Маренци	Гесс — 293	(16,6)		15,3	
Гопкинс-Салливан	Гесс — 293	(16,6)		13,3	
Выделение	Мартин — 437				0,7
Салливан	Салливан — 596	(16,6)		12,4	
Салливан	Салливан — 601	(16,6)	3,2	11,3	
Мёрнер-Окуда	Салливан — 601	(16,6)		11,5	
Фолин	Салливан — 601	(16,6)		12,5	
Гопкинс-Викери	Викери — 652	(16,6)		9,2	
Барнштейн	Дю-Виньо — 661	(16,6)			0,5
Фолин	Уильсон — 681			9,9	
Среднее и 2 × S. E.			3,5	11,1 ± 0,9	0,6

КЕРАТИНЫ

Серусодержащие аминокислоты в белках *шерсти животных*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Шерсть ангорская	Салливан-Барнштейн	Бэйлей — 43	15,9	3,37	11,2	0,8
Шерсть ангорская	Фолин	Бэйлей — 43	15,9		11,5	
Шерсть ангорская	Фолин	Бэйлей — 43	15,5		2,0	
Шерсть ангорская	Салливан-Барнштейн	Бэйлей — 43	15,5	1,96	1,9	0,8
Шерсть крысы [а]	Фолин	Не опубликовано	14,7		13,4	
Шерсть крысы [б]	Фолин	Не опубликовано	14,8		15,6	
Шерсть крысы [в]	Фолин	Не опубликовано	14,6		16,0	
Шерсть крысы [г]	Фолин	Не опубликовано	14,7		14,7	
Шерсть верблюда	Фолин	Блок — 97	15,1	3,3	11,7	
Шерсть крысы	Фолин	Уильсон — 681	(15,4)		14,6	
Шерсть шимпанзе	Фолин, высчитано	Блок — 109	16,7	4,1	14,9	0,7
Шерсть кошки	Фолин	Уильсон — 681	(15,4)		13,6	
Шерсть собаки	Фолин	Уильсон — 681	(15,4)		19,7	
Щетина свиньи	Фолин	Не опубликовано	15,1	3,7	9,2	
Щетина свиньи	Флеминг-Вассель	Не опубликовано	15,1		8,3	
Шерсть козла	Фолин	Блок — 97	16,2	3,1	8,8	
Шерсть кролика	Фолин	Уильсон — 681	(15,4)		13,5	
Шерсть кролика	Лагг, Мак-Карти	Не опубликовано			16,7	0,5
Шерсть крупн. рог. скота	Фолин, высчитано	Блок — 109	15,5	3,8	13,9	0,6

[а] Диэта — 30% молочного порошка.
[б] Диэта — 30% молочного порошка + цистин.
[в] Диэта — 30% молочного порошка + метионин.
[г] Диэта — 40% молочного порошка.

КЕРАТИНЫ

Серусодержащие аминокислоты в *белках рога и подобных эукератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %
Рог крупн. рог. скота	Выделение	Мёрнер — 463	(16,1)	2,48	6,8
Рог крупн. рог. скота	Выделение	Абдергальден — 16	(15,1)		7,9
Рог крупн. рог. скота	Фолин	Блок — 97	16,1	2,8	8,2
Рог крупн. рог. скота		Блюменталь — 111	(16,1)	3,6	
Рог крупн. рог. скота	Фолин	Фолин — 231	(16,1)		6,7
Рог носорога	Фолин	Блок — 97	15,6	2,4	8,9
Копыта молодого быка	Фолин	Не опубликовано	15,0	2,0	6,3
Копыта молодого быка	Флеминг-Вессель	Не опубликовано	15,0		6,0
Клюв эму	Фолин	Не опубликовано	13,2		4,7
Клюв гуся	Фолин	Не опубликовано	10,6		6,3
„Клюв" игуаны	Фолин	Не опубликовано	13,5		6,8
Иглы дикобраза	Фолин	Блок — 97	15,8	3,0	9,5
Иглы ехидны	Фолин	Блок — 97	15,2	4,0	12,5
Ногти человека	Россов-Салливан	Фрейберг — 243	(16,0)		11 ± 1
Ногти человека	Салливан	Льюис — 418	16,8		10 ± 1
Ногти человека	Салливан	Гесс — 292	(14,9)		12,9
Перья гусиные		Блок — 77	15,5	3,3	
Перья гусиные	Фолин	Уильсон — 681	15,1	3,0	10,5
Перья курицы	Фолин	Блок — 97	15,5	2,4	7,0
Перья индюка	Фолин	Уильсон — 681	15,5	2,5	8,3
Перья утки	Фолин	Уильсон — 681	15,7	3,0	10,7
Кожа змеи	Фолин	Блок — 97	15,2	2,3	6,9
Подскорлуповая перепонка	Фолин	Колвери — 141	(16,6)		6,2
Подскорлуповая перепонка	Фолин	Колвери — 142	(16,6)	3,64	12,2
Подскорлуповая перепонка	Выделение	Мёрнер — 463	(16,0)	2,47	7,6

КЕРАТИНЫ

Серусодержащие аминокислоты в *псевдокератинах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	
Нейрокератин	Выделение	Аргирис — 32	14,2		1,7	
Нейрокератин		Блок — 78	14,1	2,25		
Нейрокератин	Фолин	Не опубликовано	13,3	2,4	4,1	
Нейрокератин	Фолин	Не опубликовано	10,9		4,5	папаин
Нейрокератин	Фолин	Не опубликовано	10,0		4,5	пепсин
Нейрокератин	Фолин	Не опубликовано	8,3		3,9	трипсин
Кожа человека	Фолин	Блок — 79	15,5	1,72	3,5	
Кожа человека	Фолин	Экштайн — 203	14,2		4,3	
Кожа человека	Фолин	Уилькерсон — 678	15,1		2,3	
Кожа человека	Фолин-Барнштейн	Уилькерсон — 679	15,1	1,15	2,5	2,6
Кожа человека	Фолин	Уильсон — 681	13,0	0,86	2,6	
Кожа ягненка	Салливан	Салливан — 601	(16,0)	0,79	0,9	
Кожа ягненка	Мёрнер-Окуда	Салливан — 601	(16,0)		0,9	
Панцырь черепахи	Фолин	Уильсон — 681	(15,0)		7,9	
Панцырь морской черепахи	Фолин	Блок — 96	14,1	2,6	9,6	
Головной нарост у пеликана	Фолин	Блок — 96	14,0	1,8	4,6	
Китовый ус	Фолин	Блок — 96	14,1	3,9	10,8	
Яйцевая оболочка	Салливан	Юнг — 694	15,3		1,9	Лосось
Горгонин	Фолин-Гопкинс	Блок — 96	14,1		10,2	G. flabellum
Горгонин	Фолин-Гопкинс	Блок — 96	13,7		8,9	P. dichotoma
Спонгин	Фолин-Гопкинс	Блок — 96	14,0		3,4	

Кератины

Волос и шерсть. Одной из давно установленных особенностей кератинов является высокое содержание в них серы и цистина. Интересно, что, в отличие от большого числа определений цистина в эукератинах, метионин в этой группе белков был определен только в нескольких случаях. В волосах человека метионин не определялся совсем. Однако найденная в волосах «нецистиновая сера» заставляет предположить, что этот белок содержит некоторое количество метионина.

Колебания в содержании цистина в отдельных образцах одного и того же белка могут обусловливаться разными причинами. Среди них наибольшее значение имеет обработка, которой подвергается белок до гидролиза. Так, Бэйлей [43] показал, что очистка ангорской шерсти снижает содержание цистина приблизительно на $^1/_5$ от первоначального количества.

Псевдокератины. Большинство псевдокератинов содержит меньше цистина, чем в среднем эукератины.

БЕЛКИ ПЕЧЕНИ

Серусодержащие аминокислоты *белков печени*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Бык	Фолин, высчитано	Не опубликовано	13,3	1,1	1,4	3,4	
Бык	Гопкинс-Бич	Бич — 59		0,9	1,3	3,2	
Крыса	Фолин	Ли — 411		1,0	1,8		
Кошка	Фолин	Урбан — 625	15,4	1,2	1,8		альбумин
Кошка	Фолин	Урбан — 625	14,8	0,82	1,2		глобулин
Кошка	Фолин	Урбан — 625	15,0	0,93	1,3		
Человек	Фолин	Блок — 105	13,6		1,6		
Норм.	Барнштейн	Гринштейн—266	15,7	1,1	1,4 ± ± 0,1	3,2 ± ± 0,1	нуклеопротеин
Опухоль 31	Барнштейн	Гринштейн—267	15,5	1,1	1,4	3,0	нуклеопротеин
Треска	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано			1,1	3,4	

МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках, содержащих металл* (кроме гемоглобина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %	
Цитохром	Фолин	Теорель — 605	15,4		0,7[а]		
Гемоцианин	Фолин	Рош — 550	15,6	1,0	2,0		моллюск
Гемоцианин	Фолин	Рош — 550	16,8	1,0	1,8		б
Гемоцианин	Барнштейн	Мэзур — 441	17,5	1,12	1,8	2,4	
Гемэритрин	Фолин	Рош — 550	16,8	1,66	2,4		в
Ферритин	Барнштейн	Кун — 396	8,4		2,1	2,8	

[а] 1 моль цистеина соответствует 1,9% цистина; это указывает на большие потери при гидролизе или на неоднородность препарата.

[б] Crustacea.

[в] Siphuncle.

БЕЛКИ МОЛОКА

Серусодержащие аминокислоты в *казеине коровьего молока*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
	Газометрический	Барнштейн — 39	(15,4)		1,0	
	Фолин	Барнштейн — 39	(15,4)		0,3	
	Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(15,4)		0,3	
	Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(15,4)	0,88	0,7	3,5
	Барнштейн, иодный	Барнштейн — 41	(15,4)			3,4
	Барнштейн, титрование	Барнштейн — 41	(15,4)			3,2
	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 55	15,1		0,3	3,2

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
	Гопкинс, Барнштейн	Бич — 57	14,5	0,88	0,3	3,4
	Гопкинс, Бич	Бич — 58	15,8	0,85	0,3	3,2
Harris	Фолин	Не опубликовано	14,8	0,7		
Labco	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,8	0,7	0,5	2,7
Labco (гидролиз)	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	12,2		0,3	4,7
Labco (гидролиз)	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	12,3		0,3	4,9
Difco (гидролиз)	Мак-Карти	Не опубликовано	7,4			3,2
Difco (гидролиз)	Мак-Карти	Не опубликовано	10,5			3,7
		Блюменталь — 111	(15,4)	0,65		
	Салливан, Барнштейн	Бранд — 121	14,8		0,4	3,5
	Салливан	Ксонка — 181			0,3	
Гаммарстен	Фолин	Фолин — 231	(15,4)		0,3	
Гаммарстен	Фолин	Фолин — 234	(15,4)		0,2	
Кон	Фолин	Фолин — 234	(15,4)		0,3	
Гаммарстен	Гопкинс-Граф	Граф — 264			0,8	
Авитаминозн.	Гопкинс-Граф	Граф — 264			0,2	
	Салливан	Гесс — 291			0,3	
	Салливан	Гесс — 293	(15,4)		0,3	
	Мёрнер-Окуда	Гесс — 293	(15,4)		0,3	
	Фолин-Шинохара	Гесс — 293	(15,4)		0,5	
	Фолин-Маренци	Гесс — 293	(15,4)		0,5	
	Гопкинс	Гесс — 293	(15,4)		0,3	
	Барнштейн	Кун — 395	(15,4)		0,5	3,2
	Левайн	Левайн — 408	(15,3)			3,0
	Фолин	Маренци — 436	(15,4)		0,3	
	Салливан-Мак-Карти	Мак-Карти — 444	(15,1)		0,5	3,3
	Барнштейн	Плиммер — 521	15,2		0,4	3,1
	Фолин	Плиммер — 521	15,2		0,3	
	Салливан	Поттингер — 527	(15,4)		0,3	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
	Салливан	Прэнти — 530	(15,4)		0,3	
Гаммарстен	Салливан	Прэнти — 530	(15,4)		0,2	
Glaxo	Салливан	Прэнти — 530	(15,4)		0,1	
	Брдичка	Штерн — 590	(15,4)		0,3	
	Гопкинс	Штерн — 590	(15,4)		0,3	
	Салливан	Салливан — 598	(15,4)		0,3	
	Барнштейн	Тённис — 613	14,1		0,4	3,0
	Фолин	Томпсетт — 615	(15,4)		0,3	
	Флеминг	Вессель — 641	(15,4)		0,3	
Гаммарстен	Гопкинс	Викери — 652	(15,4)		0,2	
Гаррис	Гопкинс	Викери — 652	(15,4)		0,2	
Технический	Гопкинс	Викери — 652	(15,4)		0,5	
	Шульц	Цанд — 695	(15,4)		0,3	
Среднее и 2 × S. E.				0,78	0,36 ± ± 0,04	3,5 ± ± 0,3

БЕЛКИ МОЛОКА

Серусодержащие аминокислоты в *лактальбумине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(15,2)	1,64	4,0	2,8
Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(15,2)			2,6
Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(15,2)			2,4
Гопкинс-Барнштейн	Бич — 57	14,2	1,42	2,8	3,1
Гопкинс, Бич	Бич — 58	15,7	1,58	3,3	3,0
	Блюменталь — 111	(15,2)	1,3		
Салливан, Барнштейн	Бранд — 121	14,8		3,4	3,0
Гопкинс-Граф	Граф — 264			3,0	
Салливан	Гесс — 291	(15,2)		2,4	
Салливан	Гесс — 293	(15,2)		2,3	
Мёрнер-Окуда	Гесс — 293	(15,2)		2,7	
Фолин-Шинохара	Гесс — 293	(15,2)		2,8	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Фолин-Маренци	Гесс — 293	(15,2)		3,0	
Гопкинс-Викери	Гесс — 293	(15,2)		2,7	
Фолин	Джонс — 342	(15,2)		4,1	
Барнштейн	Кассель — 357	14,6	1,55	3,4	3,1
Левайн	Левайн — 408	(15,2)			2,6
Барнштейн	Плиммер — 521	14,2		3,7	2,6
Фолин	Плиммер — 521	14,2		2,9	
Салливан	Салливан — 596	(15,2)		2,7	
Салливан	Салливан — 598	(15,2)		2,3	
Флеминг	Вессель — 641	(15,2)		2,8	
Гопкинс	Викери — 652	(15,2)		2,7	
Среднее и 2 × S. E.			1,50	3,0 ± 0,2	2,8 ± 0,2

БЕЛКИ МОЛОКА

Серусодержащие аминокислоты в *белках молока*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Казеин (человек)	Гопкинс-Барнштейн	Бич — 57	14,6	0,75	0,8 *	2,4 *
Казеин (человек)	Барнштейн	Плиммер — 521	14,4		0,7	3,0
Казеин (человек)	Фолин	Плиммер			0,6	
Цельное молоко (человек)	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	15,2	1,6	3,4	2,0
Цельное молоко (корова)	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	15,2	1,0	1,2	2,8
Цельное молоко (корова)	Салливан	Прэнти — 530	(4,0)**		0,7	
Лактальбумин (человек)	Гопкинс, Барнштейн	Бич — 57	13,7	1,44	3,6 ± ±0,4 *	2,2 *

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Лактальбумин (человек)	Барнштейн	Пліммер—521	14,6		4,5	1,5
Лактальбумин (человек)	Фолин	Пліммер—521	14,6		3,2	
β-лактоглобулин	Фолин, Мак-Карти	Боллинг — 112	15,5	1,74	3,6 *	3,9 *
β-лактоглобулин	Флеминг-Вассель	Боллинг — 112	15,5		3,5	
β-лактоглобулин	Фолин, Барнштейн	Бранд — 128	15,6	1,64	3,7	3,3

* „Наиболее правильные данные".
** Вероятно ошибка. (*Прим. перев.*)

Белки молока

Особый интерес представляет различие в содержании цистина и метионина в женском и коровьем молоке. Лактальбумин коровьего молока содержит несколько больше метионина, чем лактальбумин женского молока. Однако явно выраженный недостаток цистина в казеине коровьего молока делает белки коровьего молока менее полноценными в отношении серусодержащих аминокислот, чем белки женского молока. Эти аналитические наблюдения были подтверждены опытами на белых крысах. Если к коровьему молоку добавить цистин или метионин в таком соотношении, чтобы количество серусодержащих аминокислот было эквивалентно их содержанию в белках женского молока, то питательная ценность белков коровьего молока заметно повышается. Это вытекает из определений баланса азота, из опытов по росту и по питанию (см. таблицу «Кератины. Серусодержащие аминокислоты в *белках шерсти животных*», стр. 236).

БЕЛКИ МЫШЦ

Серусодержащие аминокислоты в *белках мышц животных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Мышцы быка	Гопкинс, Бич	Бич — 58	14,8	1,1	1,1	3,5
Мышцы быка	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,1	1,3	3,2

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Мышцы быка	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59		1,1	0,9	3,1
Мышцы быка	Фолин	Джонс — 342	(16,0)		1,6	
Мышцы быка	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Мышцы быка	Фолин, высчитано	Не опубликовано	16,1	1,0	1,1	3,3
Мышцы теленка	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,1	1,3	3,3
Мышцы теленка	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59			1,0	3,6
Мышцы ягненка	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,1	1,4	3,1
Мышцы ягненка	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59			1,0	3,2
Мышцы свиньи	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59			1,0	3,2
Мышцы цыпленка	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,04	1,3	3,2
Мышцы цыпленка	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59			0,9	3,5
Миозин (цыпленок)	Фолин-Барнштейн	Бэйлей — 44	16,6	1,02	0,7	3,2
Мышцы свиньи	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,0	1,1	3,4
Мышцы черепахи	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,07	1,3	3,0
Мышцы черепахи	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59			0,6	4,1
Мышцы лягушки	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,1	1,3	3,2
Миоген, кролик	Фолин, Барнштейн	Бэйлей — 44	16,6	1,24	1,9	2,7
Миоген, кролик	Салливан	Бэйлей — 44	16,6		1,8	
Миозин, кролик	Фолин, Барнштейн	Бэйлей — 44	16,7	1,05	0,7	3,3
Миозин, кролик	Фолин, Барнштейн	Шарп — 575	16,8		0,7	3,2
Миозин, собака	Фолин, Барнштейн	Бэйлей — 44	16,6	1,08	0,8	3,3
Мышцы крысы	Фолин	Ли — 411		1,0	1,1	
Среднее и 2 × S. E.				1,1	1,1 ± 0,1	3,3 ± 0,1

БЕЛКИ МЫШЦ

Серусодержащие аминокислоты в *белках мышц рыб и ракообразных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Треска	Салливан, выделение	Абдергальден — 24	13,6	0,15 *	0,7	0,4 *
Треска	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,4	
Треска	Гопкинс, Мак-Карти	Бич — 59		1,19 *	1,2 *	3,7 *
Камбала	Газометрич. Барнштейн	Барнштейн — 41	(16,0)	1,16	1,9	4,0
Камбала	Салливан	Гесс — 291	(16,0)		0,8	
Камбала	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,5	
Micropogon undulatus (из окунеобразных)	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Пикша	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Пикша (мука)	Фолин	Поттингер — 526			1,1	
Макрель	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Кефаль	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Сельдь менхеден (мука)	Флеминг, высчитано	Не опубликовано	11,6	0,9	1,0	3
Lutianus campechinus (из окунеобразных)	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Лосось	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Lutianus campechinus	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,2	
Лосось	Гопкинс-Бич	Бич — 59		1,22 *	1,2 *	3,2
Миозин рыбы	Фолин, Барнштейн	Бэйлей — 44	16,6	1,17	0,9	3,5
Рыба	Фолин	Джонс — 342	(16,0)		1,3	
Креветка	Газометрич., Барнштейн	Барнштейн — 41	(16,0)	1,25	1,6	3,4

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Креветка	Салливан	Гесс — 291	(16,0)		0,9	
Креветка	Гопкинс, Бич	Бич — 59		1,16 *	1,1 *	3,0 *
Креветка	Салливан	Поттингер — 527	(16,0)		1,3	
Омар	Фолин, Барнштейн	Бэйлей — 44	16,1	1,17	0,9	3,3
Среднее и 2 × S. E.				1,13	1,2 ± ± 0,1	3,4

* „Наиболее правильные данные".

Белки мышц

Значительное совпадение в содержании цистина и метионина в белках мышц животных, рыб и ракообразных представляет интерес как для исследователей в области сравнительной биохимии, так и для исследователей в области питания.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках автотрофных организмов*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Цистин, %	Метионин, %
Phormidium	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	0,0	3,4
Ulva	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	2,7	0,0
Laminaria	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	4,7	0,0
Sargassum	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	4,0	0,0
Chondrus	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	2,0	0,0
(ирланд. мох)				
Osmunda	Шульц, высчитано	Мэзур — 442	0,8	0,0
(папоротник)				
Gloetrichia	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,0	24,3
Macrocystis	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,8	28,9
Lessoniopsis	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	1,5	5,8
Fucus	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	2,1	9,4

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Цистин, %	Метионин, %
Cystoseira	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	3,0	10,5
Egregia	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,8	4,3
Caulerpa	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,8	2,7
Codium	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,7	3,9
Diatoms (водоросли)	Шульц, высчитано	Мэзур — 443	0,8	4,1
Pteridium (папоротник)	Шульц, Барнштейн	Лагг — 655	1,6 *	2,8 *

* „Наиболее правильные данные".

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *биологически активных веществах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %
Желтый фермент	Салливан-Фолин	Кун — 393	16,3	0,47	0,5
Желтый фермент	Фолин	Кун — 394	16,3		0,4
Хлопковое семя Аллерген	Салливан	Спайс — 585	19,8	1,86	3,6
	Салливан	Спайс — 585	20,2	1,77	3,9
	Салливан	Спайс — 585	11,6	2,81	5,9
Рицин		Каррер — 355	(17,0)		1,0
Кристаллич. пептид пшеницы		Боллс — 48	17,4	4,1	15,2

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках кукурузы* (кроме зеина)

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Кукуруза белая, цельная	Фолин	Не опубликовано		1,4	1,5	
Кукуруза белая, цельная	Салливан	Ксонка — 181			0,9	

Продолжение

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Кукуруза желтая, цельная	Фолин	Не опубликовано		1,7	1,2	
Кукуруза желтая, цельная	Салливан	Ксонка — 181			0,8	
Глютин (белая)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	10,9	1,3	1,5	4
Глютин (белая)	Флеминг-Вессель	Не опубликовано	10,9		0,7	
Глютин (желтая)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	12,7	1,5	1,5	5
Глютин (желтая)	Мак-Карти	Не опубликовано	11,6			5,5
Глютелин	Салливан	Ксонка — 177	(16,0)		0,5	
Зародыш (белая)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	11,8	1,1	1,1	3
Зародыш (белая)	Флеминг-Вессель	Не опубликовано			0,6	
Зародыш (желтая)	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	12,8	1,0	1,8	1,6
Альбумины	Фолин, высчитано	Не опубликовано	12,6	0,9	0,5	2
Остатки после выделения зеина	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано	10,8		2,2	4,8
	Флеминг-Вессель	Не опубликовано	10,8		1,3	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *эдестине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Газометрический	Барнштейн — 39	(18,6)		1,5	
Фолин	Барнштейн — 39	(18,6)		1,2	
Мёрнер-Окуда	Барнштейн — 39	(18,6)		1,0	
Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(18,6)	0,85	1,5	1,8
Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(18,6)			2,0
Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(18,6)			1,9

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(18,6)			1,2
Салливан, Барнштейн	Бэйлей — 43	18,4	0,81	1,1	2,0
Фолин	Бэйлей — 43	18,4		1,2	
Гопкинс, Барнштейн	Бич — 55	17,1		1,0	2,3
Гопкинс, Бич	Бич — 58	18,5	0,82	1,0	2,0
Фолин	Фолин — 231	(18,6)		0,7	
Фолин	Фолин — 234	(18,6)		1,2	
Салливан	Гордон — 261			0,5	
Салливан	Гесс — 291	(18,6)		1,1	
Салливан, Барнштейн	Лагг — 431	18,5		1,2	2,0
Барнштейн	Лагг — 432	18,5		1,3	2,1
Фолин	Маренци — 436	(18,6)		1,2	
Мак-Карти	Мак-Карти — 444	18,4			2,1
Брдичка	Штерн — 590	(18,6)		1,0	
Гопкинс-Граф	Штерн — 590	(18,6)		1,0	
Салливан	Салливан — 596	(18,6)		1,0	
Фолин	Томпсетт — 615	(18,6)		1,3	
Флеминг-Вессель	Вессель — 641	(18,6)		1,0	
Гопкинс-Викери	Викери — 652	(18,6)		1,1	
Шульц	Цанд — 695	(18,6)		1,1	
Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(18,6)			1,2
Среднее и 2×S. E.			0,83	1,1 ± 0,3	1,9 ± 0,2

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *глиадине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Газометрический, Барнштейн	Барнштейн — 41	(17,7)	0,9	2,5	2,7
Салливан, Барнштейн	Бэйлей — 43	17,1	1,12	2,3	1,5
Фолин	Бэйлей — 43	17,1		2,4	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Фолин	Фолин — 231	(17,1)		2,2	
Фолин	Фолин — 234	(17,1)		2,1	
Гопкинс-Граф	Граф — 264			2,1	
Салливан	Гесс — 291	(17,1)		2,0	
Фолин	Джонс — 342	(17,1)		1,6	
Фолин	Маренци — 436	(17,1)		2,1	
Салливан	Салливан — 596	(17,1)		2,1	
Гопкинс	Викери — 652	(17,1)		1,9	
Среднее и 2 × S. E.			1,0	2,1 ± 0,2	2,1

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках листьев*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Люцерна	Фолин	Не опубликовано	10,6	1,3	1,4	
Клевер белый	Барнштейн	Лагг — 432	13,1		1,7	2,3
Клевер красный	Барнштейн	Лагг — 432	12,8		1,7	2,2
Клевер красный	Салливан	Поллард — 524			0,2 *	
Фасоль многоцветн.	Барнштейн	Лагг — 432	13,3		1,8	2,1
Ботва брюквы	Барнштейн	Лагг — 432	13,0		1,9	2,8
Ботва свеклы	Барнштейн	Лагг — 433			2,0	2,0
Среднее и 2 × S. E.					1,8 ± ± 0,2	2,3 ± ± 0,3

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках трав*

Высчитано на 16,0% азота

Трава	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Ежа сборная	Салливан, Барнштейн	Бэйлей — 43	13,4	1,2	0,2*	
Ежа сборная	Салливан, Барнштейн	Лагг — 431	14,1		2,0	2,2
Ежа сборная	Барнштейн	Лагг — 432	12,9		2,1	2,4
Ежа сборная	Шульц, Барнштейн	Лагг — 433			2,2	2,1
Ежа сборная	Салливан	Поллард — 524			0,3*	
Канареечник	Салливан, Барнштейн	Лагг — 431	15,4		2,0	2,1
Канареечник	Барнштейн	Лагг — 432	15,4		2,2	2,5
Рожь	Барнштейн	Лагг — 432	13,5		2,3	2,7
Рожь	Шульц, Барнштейн	Лагг — 433			2,1	2,3
Рожь	Салливан,	Поллард — 524			0,5*	
Овсяница	Барнштейн	Лагг — 432	14,3		2,2	2,8
Люцерна	Салливан, Барнштейн	Лагг — 431	13,9		1,5	2,2
Люцерна	Барнштейн	Лагг — 432	14,0		1,7	2,2
Лебеда	Салливан, Барнштейн	Лагг — 431	12,1		1,6	2,6
Лебеда	Барнштейн	Лагг — 432	12,1		2,0	2,6
Гребенник	Барнштейн	Лагг — 432	14,1		2,3	2,7
Среднее и 2 × S. E.				1,2	2,0 ± ± 0,1	2,4 ± ± 0,1

* Не входит в расчет среднего.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *различных растительных белках*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Хлопков. семя глобулин	Барнштейн	Фонтэн — 238	17,2	0,70	1,1	2,3
Хлопков. семя глобулин	Фолин	Джонс — 342	(17,2)		1,0	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Хлопков. семя глобулин	Шульц	Цанд — 695	(17,2)		1,0	
Хлопков. семя мука	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	10,9		2,0	1,6
Льняная мука (высуш. семя)	Фолин, высчитано	Не опубликовано		1,1	1,9	3
Земляной орех, мука	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано	10,4		1,6	0,9
Арахин	Газометрич., Барнштейн	Барнштейн — 41	(18,0)	0,37	1,2	0,5
Арахин	Гопкинс, Бич	Бич — 58	17,7	0,43	0,8	0,5
Арахин	Барнштейн	Беннетт — 63	(18,0)			0,7
Арахин	Фолин	Не опубликовано	17,0		0,9	
Арахин	Барнштейн	Броун — 133	18,0	0,46	1,3	0,6
Арахин	Гопкинс-Граф	Граф — 264			0,8	
Арахин	Салливан	Гесс — 291	(18,0)		1,2	
Арахин	Салливан, Мак-Карти	Гесс — 295	(18,0)		1,1	0,4
Арахин	Фолин	Джонс — 342	(18,0)		1,0	
Арахин	Салливан	Салливан — 596	(18,0)		0,8	
Арахин	Среднее и 2 × S. E.			0,42	1,0 ± ± 0,2	0,5
Конарахин	Барнштейн	Броун — 133	18,0	1,08	2,6	1,9
Конарахин	Фолин	Джонс — 342	(18,0)		2,7	
Соевые бобы сырые	Мак-Карти, Салливан	Олмквист — 29				1,9
Соевая мука	Мак-Карти, Салливан	Олмквист — 29				2,0
Соевая мука	Фолин, Мак-Карти	Не опубликовано			1,3	1,6
Соевая мука	Салливан	Гамильтон — 227			0,6[а]	
Соевая мука	Салливан	Гамильтон — 227			1,4[б]	
Льняная мука (натур. семя)	Фолин-Мак-Карти	Не опубликовано			1,9	2,3
Глицинин	Газометрич., Барнштейн	Барнштейн — 41	(17,5)	0,77	1,5	1,7
Глицинин	Фолин	Джонс — 342	(17,5)		1,1	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Гордеин	Газометрич., Барнштейн	Барнштейн — 41	(17,2)	0,84	1,6	2,1
Каучуковый латекс	Барнштейн	Тристрам — 620	15,0		1,0	1,1
Рис, глютелин	Салливан	Ксонка — 177			1,2	
Рис, отруби	Салливан	Кик — 364			1,0	
Рис цельный	Салливан	Кик — 364			1,3 [в]	
Рис (cereal)	Мак-Карти-Салливан	Не опубликовано				3,1
Овес цельный	Салливан	Ксонка — 182			0,7	
Овес (cereal)	Флеминг, Мак-Карти	Не опубликовано			1,8	2,3

[а] Ohio. 13-177 наиболее низкие данные из ряда анализированных образцов.
[б] Mansoy. Наиболее высокие данные из ряда анализированных образцов.
[в] Среднее из 7 образцов, в которых содержание цистина колебалось от 1,1 до 1,5.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *вирусах*

Высчитано на 16,0% азота

Белок	Метод	Ссылка	Азот, %	Цистин, %	Гидролиз
Табачная мозаика [а]	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,5	HCl
Табачная мозаика	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,5	HCl—HCOOH
Табачная мозаика	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,7	H_2SO_4 в атмосф. азота
Табачная мозаика	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,6	HCl — $TiCl_3$
Табачная мозаика	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,7	HI
Табачная мозаика	Салливан	Гесс — 294	(16,0)	0,7 *	HI — HCOOH
Табачная мозаика	Салливан	Росс — 555	15,9	0,5	HCl и/или HCOOH
Табачная мозаика	Фолин	Росс — 555	15,9	0,3	HCl и/или HCOOH
Табачная мозаика [б]	Барнштейн	Росс — 555	15,9	0,7 *	

[а] Метионин 0,0?
[б] Сера — 0,24%.
* „Наиболее правильные данные“.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках пшеницы* (кроме глиадина)

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Пшеница твердая	Салливан	Ксонка — 179			1,3	
Пшеница твердая	Салливан	Ксонка — 179			1,1	
Пшеница мягкая	Салливан	Ксонка — 179			1,1	
Пшеница цельная	Фолин	Не опубликовано		1,4	1,8	
Пшеница цельная	Флеминг-Вессель	Не опубликовано			1,0	
Мука	Фолин, высчитано	Не опубликовано	12,8	1,1	1,9	3
Мука твердой пшеницы	Салливан	Ксонка — 180			1,6	
Мука твердой пшеницы	Салливан	Ксонка — 180			1,7	
Глютин	Салливан	Падоа — 508	?		1,4	
Глютелин	Салливан	Ксонка — 177	(16,0)		1,3	
Глютенин	Фолин	Маренци — 436	(16,0)		0,7	
Глютенин	Фолин	Джонс — 342	(16,0)		1,6	
Зародыш	Фолин, высчитано	Не опубликовано		0,5	0,8	2
Зародыш	Флеминг-Вессель	Не опубликовано			0,4	
Отруби	Салливан	Ксонка — 180			0,5	
Отруби, альбумин	Фолин	Джонс — 342	(16,0)		3,3	
Отруби, глобулин	Салливан	Салливан — 596	(16,0)		0,5	
Высевки	Салливан	Ксонка — 180			0,6	

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *белках дрожжей*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Пивные дрожжи	Фолин, высчитано	Не опубликовано	9,7	0,8	1,0	2
Пивные дрожжи	Фолин	Не опубликовано	9,7		1,5	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Пивные дрожжи	Фолин, высчитано	Не опубликовано	14,4	0,7	2,2	1—2
Пивные дрожжи	Фолин, высчитано	Не опубликовано		0,9	1,4	2
Пивные дрожжи	Фолин	Не опубликовано			1,5	
Пивные дрожжи	Фолин, высчитано	Не опубликовано		0,8	0,8	2—3
Пивные дрожжи	Салливан	Ксонка — 178		0,6	0,5	
Пивные дрожжи	Салливан	Прэнти — 530	(8,0)		1,8	
Пивные дрожжи	Салливан	Прэнти — 530	(8,0)		1,8	
Хлебопекарные дрожжи	Фолин, высчитано	Не опубликовано		0,9	0,7	
Хлебопекарные дрожжи	Салливан	Ксонка — 178		0,8	0,7	3
Хлебопекарные дрожжи	Салливан	Прэнти — 530	(8,0)		1,3	
Дрожжи сухие, замочен. (Steep water)	Фолин, высчитано	Не опубликовано		1,3	2,2	3
Среднее и 2 × S. E.				0,9	1,3 ± ± 0,3	2—3

РАСТИТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ

Серусодержащие аминокислоты в *зеине*

Высчитано на 16,0% азота

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Барнштейн, иодный	Барнштейн — 42	(16,1)			2,5
Барнштейн, титрование	Барнштейн — 42	(16,0)			2,4
Фолин	Фолин — 231	(16,1)		0,5	
Фолин	Фолин — 234	(16,1)		1,0	
Салливан	Гесс — 291	(16,1)		0,9	
Фолин	Джонс — 342	(16,1)		0,9	
Брдичка	Лен — 398	(16,1)		0,8	
Салливан	Салливан — 598	(16,1)		0,8	
Гопкинс	Викери — 652	(16,1)		0,9	

Продолжение

Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Барнштейн	Виртанен — 663	14,5			2,2
Шульц	Цанд — 695	(16,1)		0,8	
	Блюменталь — 111	(16,1)	0,52		
Среднее			0,5—0,6	0,8	2,4

Растительные белки

Автотрофные организмы. Кажущееся отсутствие метионина (высчитано по нецистиновой сере) в общих белках тканей некоторых морских организмов менее поразительно, чем исключительно высокое содержание этой аминокислоты у других автотрофных организмов (обратное см. [433 А]).

Биологически активные вещества. Большой интерес представляет высокое содержание цистина (15%) в белке или полипептиде, выделенном из отрубей пшеницы, особенно если вспомнить, что цистин обычно встречается в больших количествах в эукератинах.

Белки кукурузы. Высокий процент метионина в глютине кукурузы не является общепризнанным фактом. Между тем это может иметь существенное значение при оценке кукурузы как пищевого продукта.

Белки трав и листьев. В отличие от больших колебаний в содержании цистина и метионина у автотрофных организмов, содержание этих аминокислот в белках всех до сих пор исследованных трав и листьев очень однородно.

Белки земляного ореха. Эти белки отличаются необычайно низким содержанием метионина. Этот факт был установлен уже давно Барнштейном анализами арахина и Бичем опытами по питанию.

Белки соевых бобов. У различных видов бобов сои процент цистина изменяется более чем в два раза. Это наблюдение представляет особый интерес в связи с существующей широкой тенденцией использовать соевые бобы в качестве «заменителей мяса» вне зависимости от их аминокислотного состава.

Белки пшеницы. Повидимому, глютин пшеницы не содержит такого количества метионина, как глютин кукурузы, но необходимы еще дальнейшие исследования. Относительно высокое содержание цистина в альбумине отрубей, установленное Джонсом, интересно в связи с работами Болла, который выделил недавно из отрубей пшеницы полипептид, содержащий 15% цистина.

БЕЛКИ ОРГАНОВ

Серусодержащие аминокислоты в *белках животных органов*

Высчитано на 16,0% азота

Органы	Метод	Ссылка	Азот, %	Сера, %	Цистин, %	Метионин, %
Почки (человек)	Фолин	Блок — 105	13,3		1,6	
Почки (крыса)	Фолин	Ли — 411		1,1	1,8	
Почки (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,6	1,0	1,5	2,8
Почки (бык)	Салливан-Бич	Бич — 59		1,1	1,2	2,7
Селезенка (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,7	0,9	1,3	2,6
Зобная железа (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,4	0,8	1,1	2,4
Кишечник (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,4	0,8	1,2	2,2
Легкое (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,3	0,9	1,4	2,5
Легкое (бык)	Гопкинс, Мак-Карти	Бич — 59		1,0	1,5	2,5
Сердце (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	14,8	1,1	1,2	3,6
Сердце (бык)	Салливан, Мак-Карти	Бич — 59		1,1	1,2	3,2
Мочевой пузырь (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,9	0,9	1,1	2,8
Панкреа (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,5	0,9	1,5	2,3
Яичники (корова)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,8	1,0	1,2	3,2
Семенники (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,4	0,9	1,2	2,7
Слюнные железы (бык)	Фолин, высчитано	Не опубликовано	15,7	0,9	0,9	3,1
Надпочечник (бык)	Фолин	Не опубликовано	15,8		1,7	
Желудок (бык)	Гопкинс-Бич	Бич — 59		1,0	1,0	2,0
Среднее и 2 × S. E.				0,9 ± ± 0,1	1,3 ± ± 0,1	3

Белки тканей животных

Белки животных тканей содержат, повидимому, от 1 до 1,5% цистина и около 3% метионина. Исключение составляют белки опорной соединительной и защитной тканей.

Глава IV

β-ОКСИАМИНОКИСЛОТЫ

СЕРИН И ТРЕОНИН

	Серин	Треонин
Эмпирическая формула . . .	$C_3H_7O_3N$	$C_4H_9O_3N$
Оптическая форма	*l*	*d*
Молекулярный вес	105,06	119,08
Углерод	34,27	40,31
Водород	6,72	7,62
Азот	13,33	11,74
Кислород	45,68	40,31
Точка плавления	228° (разл.)	251—3° (испр.)

Раздел 1

ГИДРОЛИЗ

Так же как и цистеин, серин и треонин легко разрушаются при кипячении с разбавленными щелочами. Но, повидимому, они вполне устойчивы к кислотному гидролизу даже в присутствии углеводов. Борчерс, Тоттер и Берг [115] нашли, однако, что при длительном нагревании и высокой концентрации серной кислоты треонин разрушается. Наши исследования заставляют предположить, что количество треонина, определяемое в белковых гидролизатах, зависит от времени и температуры гидролиза. Эти наблюдения нуждаются еще в дополнительных исследованиях *.

Николе, Шинн и Зайдель [479] сообщили, что серии, связанный с фосфорной кислотой в казеине, вителлине и других белках, разрушается во время кислотного гидролиза. Поэтому они предлагают предварительно нагревать фосфопротеин 24 часа при 37° с избытком 0,25 н. NaOH для разрушения связи с фосфорной кислотой, а затем уже проводить обычный кислотный гидролиз.

«К серину, определенному в таком гидролизате, вносится небольшая поправка на нефосфорилированный серин, который разрушается во время обработки щелочью, и поправка, равная одному молекулярному эквиваленту всего выделенного фосфата». С этой поправкой получаются значительно более высокие результаты по содержанию серина, чем при непосредственном

* См. Ботвинник, Морозова, *ДАН*.

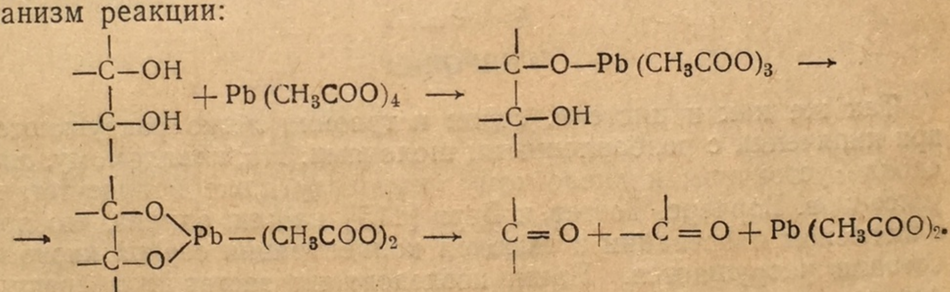
определении. Так, в вителлине (N = 15,26%) установлено 7,70% серина без внесения поправки и 9,0% — с поправкой; в казеине (N = 15,80%) — 5,5% серина без поправки и 7,4% — с поправкой.

Хотя эти методы не обеспечивают возможности определения абсолютного содержания треонина и серина в нативном белке, вследствие потерь во время гидролиза и вследствие возможного частичного окисления, тем не менее «эти результаты», пишут Мартин и Сайндж [438], «имеют значение как сравнительные и представляют нижний предел содержания этих аминокислот в белке».

Раздел 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТРЕОНИНА

История вопроса. В 1939 г. Блок и Боллинг [99, 100] показали, что из всех встречающихся обычно в белковом гидролизате аминокислот только один треонин образует ацетальдегид в теоретическом количестве*. В соответствии с данными Крейджи, Крафт и Ранк [173] был предложен следующий механизм реакции:



Образующийся при этом ацетальдегид отгонялся током воздуха в раствор *п*-оксидифенила в концентрированной серной кислоте, согласно Игрю [206]. Высокая специфичность этого реактива по отношению к ацетальдегиду была установлена Миллером и Мунтцом [450] и Баркером и Зуммерсоном [49].

1. ОКИСЛЕНИЕ ТРЕОНИНА ДО АЦЕТАЛЬДЕГИДА СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ОКИСЛИТЕЛЯМИ

А. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРЕОНИНА ТЕТРААЦЕТАТОМ СВИНЦА ПО БЛОКУ И БОЛЛИНГ [99, 100]

Основы метода. Треонин окисляют тетраацетатом свинца до ацетальдегида, который отгоняют током воздуха в концентрированную H_2SO_4, содержащую *п*-оксидифенил. Получается стойкое соединение, окрашенное в малиново-красный цвет.

* При окислении специфическими реагентами, например тетраацетатом свинца и периодной кислотой. (*Прим. перев.*)

Реактивы. Тетраацетат свинца (Физер [218]). Смесь из 500 *мл* ледяной уксусной кислоты и 400 *мл* уксусного ангидрида нагревают при механическом перемешивании до 55° и добавляют 650 *г* порошкообразного сухого Pb_3O_4 (сурик) порциями по 20 *г*. Каждую следующую порцию прибавляют после исчезновения красной окраски. Поддерживают температуру в пределах 50—80° С. Затем смесь охлаждают, фильтруют и промывают осадок тетраацетата свинца. Влажную соль перекристаллизовывают из кипящей уксусной кислоты, которую «высушивают» добавлением небольшого количества уксусного ангидрида. Выход — 350 *г*.

Тетраацетат свинца (Оспер и Дизи [481]). Смесь из 600 *мл* ледяной уксусной кислоты и 150 *мл* уксусного ангидрида нагревают при механическом перемешивании до 65° и пропускают через нее ток хлора. Затем пятью равными порциями прибавляют 120 *г* Pb_3O_4, предварительно тщательно высушенного при 150° в течение 1—2 час. Вносят каждую следующую порцию после исчезновения красной окраски. Температуру реакционной смеси поддерживают в пределах 65—80°. Горячую жидкость декантируют через воронку с обогревом и фильтрат охлаждают. Осадок тетраацетата свинца отсасывают и промывают смесью уксусной кислоты и уксусного ангидрида. Осадок содержит 90% тетраацетата свинца.

Получают еще одну порцию кристаллов, экстрагируя первоначальный осадок нагретой (70—80°) ледяной уксусной кислотой:

$$Pb_3O_4 + 8CH_3COOH \longrightarrow Pb(CH_3COO)_4 + 2Pb(CH_3COO)_2 + 4H_2O,$$

$$2Pb(CH_3COO)_2 + Cl_2 \longrightarrow Pb(CH_3COO)_4 + PbCl_2.$$

п-Оксидифенил (Миллер и Мунтц [450]). Растворяют технический *п*-оксидифенил в горячем очищенном ацетоне и выкристаллизовывают его из холодного раствора прибавлением воды. Эту операцию проводят дважды. Третий раз перекристаллизовывают *п*-оксидифенил из минимального количества горячего ацетона без добавления воды. *п*-Оксидифенил сушат при комнатной температуре в темном месте, защищенном от пыли.

Ледяная уксусная кислота. Ледяную уксусную кислоту очищают нагреванием с обратным холодильником в течение 7 час. с 0,5—1,0% $K_2Cr_2O_7$. Затем перегоняют в стеклянном приборе.

Аппаратура. Шесть пробирок, емкостью в 20 × 2,5 *см* из стекла пирекс с 29/42 взаимозаменяемыми стеклянными шлифами, соединяют последовательно с помощью короткого толстостенного каучука и вводных стеклянных трубок, обычно применяемых при газовой адсорбции.

В первую пробирку наливают 20 *мл* концентрированной H_2SO_4 для промывания и высушивания вводимого газа.

Вторая пробирка пустая.

Третья пробирка, «окислительная», содержит 25 *мл* очищенной ледяной уксусной кислоты, 1 *г* тетраацетата свинца и менее 10 *мг* аминокислоты в растворе. В пробирке поддерживают температуру в 30° С.

Четвертая пробирка — пустая, помещается в водяную баню с температурой 4° для конденсации паров уксусной кислоты.

Пятая пробирка содержит зерненый NaOH для улавливания последних следов уксусной кислоты.

Шестая пробирка, «развивающая окраску», содержит 15 *мл* концентрированной H_2SO_4 и 50—100 *мг* очищенного *п*-оксидифенила. Пробирку помещают в ледяную баню при 0° на все время просасывания воздуха.

Метод. а) Гидролиз. 10—15 *мг* белка гидролизуют в течение ночи с 8 н. H_2SO_4 на масляной бане при 115—125°. Каприловый спирт не прибавляется. Для удаления спирта или других летучих веществ, из которых может образоваться уксусный альдегид, нейтрализованный гидролизат упаривают в вакууме или на паровой бане до негустого сиропа. Остаток растворяют в воде или в очищенной ледяной уксусной кислоте.

б) Окисление. Определенную часть раствора, содержащую 0,5—1,0 *мг* белка, вносят в третью пробирку и оставляют стоять один час при 30° для окисления. Образовавшийся ацетальдегид отгоняют очень слабым током воздуха в шестую пробирку через 4 и 5. Полезно пользоваться газовыми часами или реометром, чтобы поддерживать условия отгонки приблизительно одинаковыми.

в) Развитие окраски. К концу просасывания воздуха шестую пробирку, которая еще содержит значительное количество нерастворенного *п*-оксидифенила, помещают точно на 2 мин. в кипящую водяную баню для растворения избытка *п*-оксидифенила и затем охлаждают льдом. Другой вариант метода состоит в перенесении содержимого шестой пробирки в кювету. Затем дают *п*-оксидифенилу всплыть на поверхность с тем, чтобы в прозрачном растворе можно было провести измерения в обычном фотоэлектрическом колориметре со светофильтром 560 *μ*.

Вычерчивают стандартные кривые для содержания треонина в пределах 0,03—0,07 *мг*.

Примечание. Так как нельзя добиться максимума окраски, если скорость аэрации будет слишком мала или слишком велика, то целесообразно соединять две серии пробирок, чтобы иметь возможность проводить одновременно и в одинаковых условиях определение ацетальдегида, полученного из белка и из стандарта треонина. Порядок расположения пробирок с исследуемым раствором и со стандартом меняют в каждом последующем опыте.

Окраска очень стойка и сохраняется по крайней мере 24 часа. Метод дает возможность определить еще 0,004 *мг* треонина. Треонин и молочная кислота образуют теоретическое количество ацетальдегида, которое идентифицируют в виде динитрофенилгидразона (т. пл. 159—161°, Байэл и Вайс [74]).

Борчерс, Тоттер и Берг [115] подтвердили наблюдение Блока и Боллинг [100] о том, что *d*(—)треонин дает 100% требуемого количества ацетальдегида. Но они нашли, что аллотреонин выделяет только около половины теоретического количества ацетальдегида. Они установили также, что аланин в этих условиях выделяет 2% от теоретического количества ацетальдегида.

Борчерс, Тоттер и Берг [115] указывают, что точность тетраацетатного метода составляет около 5%. Однако авторы отмечают, что этот метод слишком капризен и потому мало пригоден для широкого употребления.

Б. ПЕРИОДАТНЫЙ МЕТОД ШИННА И НИКОЛЕ [578]

Основы метода. Подобно тетраацетату свинца, периодная кислота окисляет 1,2 гликоли и аналогичные соединения до соответствующих альдегидов (Малапрад [435]). Так, треонин образует ацетальдегид, серин-формальдегид. Шинн и Николе [578] не использовали этого факта для разработки специфического метода определения ацетальдегида, но они сделали существенное наблюдение, что в присутствии избытка аминокислоты, образовавшейся из серина, формальдегид полностью задерживается в окислительной смеси и только ацетальдегид перегоняется в бисульфитный раствор.

Прибор. Прибор состоит из трех последовательно соединенных пробирок, аналогичных тем, которые описаны в разделе А.

Реактивы. 0,1 н. раствор мышьяковистокислого натрия Na_2HAsO_3, содержащий 20 *г* $NaHCO_3$ в 1 *л*;

0,5 мол. раствор периодной кислоты H_5IO_6;

2% раствор натрийбисульфита $NaHSO_3$, содержащий 19 *г* метабисульфита в 1 *л*;

0,1 н. раствор иода: 13 *г* I_2 и 30 *г* KI растворяют в 250 *мл* воды и разбавляют до литра. Устанавливают его титр по 0,1 н. раствору $Na_2S_2O_3$ (24,82 *г* $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ в 1 *л*).

1% водный раствор крахмала.

В качестве антисептика нельзя применять хлороформ.

Метод. а) Гидролиз. Небольшое количество белка гидролизуют соляной кислотой (1 : 1) в течение 24 час. Избыток кислоты нейтрализуют и разбавляют гидролизат до желаемого объема.

б) Окисление. Определенную часть гидролизата, содержащего от 3 до 10 *мг* треонина в 5 *мл* раствора, помещают в первую пробирку. Затем добавляют 1 каплю «Нуйоля», 5 *мл* молярного

раствора $NaHCO_3$ и 10 *мл* раствора Na_2AsO_3. Пробирки соединяют с источником угольной кислоты и пропускают газ для перемешивания содержимого. Затем добавляют 1—2 *мл* 0,5 мол. раствора H_5IO_6 и отгоняют ацетальдегид газом в две приемные, последовательно расположенные пробирки. Первая содержит 5 *мл*, а вторая — 3 *мл* 2% раствора $NaHSO_3$, разбавленные каждый до 25 *мл*. Ток газа пропускают в течение 1 часа со скоростью — 1 *л* в минуту. Окислительную смесь сохраняют для определения серина (см. раздел 3, подраздел А этой главы).

в) Определение. Содержимое пробирок 2 и 3 смешивают и определяют ацетальдегид титрованием по Петерсу и Ван-Сляйку [516].

Свободный бисульфит натрия удаляют 0,1 н. раствором иода, пользуясь в качестве индикатора крахмалом (1 *мл*). Избыток иода удаляют каплей 0,1 н. $Na_2S_2O_3$ и затем осторожно прибавляют 0,002 н. раствора иода до того момента, пока от одной капли раствор не окрасится в светлоголубой цвет (но не синий).

Связанный бисульфит натрия выделяют добавлением небольшого количества насыщенного раствора $NaHCO_3$ или Na_2HPO_4 (Уинник [683]) и оттитровывают выделившийся $NaHSO_3$ 0,02 н. раствором иода. Конец титрования проверяют, добавляя небольшое количество $NaHSO_3$. Синяя окраска должна сохраняться в течение 15 сек. или долее.

1 *мл* 0,02 н. I_2 = 1,19 *мг* треонина.

Примечание. Борчерс, Тоттер и Берг [115] нашли, что *d*(—)треонин выделяет при окислении периодатом 96% теоретического количества ацетальдегида. Между тем Мартин и Сайндж [438] сообщают, что природная аминокислота дает только около 70% теоретического количества. Они подтверждают наблюдения Борчерса, Тоттера и Берга о том, что при окислении периодатом синтетического *d,l*-треонина выделяется 100% высчитанного количества ацетальдегида.

Мартин и Сайндж [438] рекомендуют дважды упаривать гидролизат в вакууме для удаления спирта и аналогичных соединений.

Николе [478] видоизменил этот метод, и получил возможность определять треонин в присутствии углеводов, в том числе метилпентоз. Окисление изменено в том направлении, что HIO_4 прибавляют до введения арсенита, а не после; определенную часть гидролизата подщелачивают по лакмусу бикарбонатом и добавляют избыток последнего для нейтрализации уксусной кислоты. Затем при перемешивании вносят тремя равными порциями 3 моля уксусного ангидрида (высчитано по азоту из определенного объема раствора), растворенного в 5—10 объемах бензола. Бензол удаляют током воздуха. Треонин рассчитывают

по разности между общим количеством ацетальдегида и количеством, найденным после ацетилирования.

в. МИКРОМЕТОД ШИННА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ УИННИКОМ [685]

Прибор. Микродиффузионные чашечки Конвея [169, 170, 276].

Метод. *а)* Гидролиз. 500 *мг* белка гидролизуют с 20 *мл* 3 н. HCl в течение 24 час. Гидролизат нейтрализуют до pH 7,0 и разбавляют так, чтобы в 2 *мл* раствора содержалось приблизительно 0,2—0,5 *мг* треонина.

б) Окисление и диффузия. 1,5 *мл* 0,25 мол. $NaHSO_3$ помещают в центральную ячейку прибора Конвея [169]. Во внешнюю ячейку наливают последовательно 3 *мл* испытуемого раствора, 1 *мл* 0,1 мол. раствора K_3PO_4 (1 *мл* K_3PO_4 должен нейтрализовать 1 *мл* 0,2 мол. раствора HIO_4 до pH 7,0) и 1 *мл* 0,2 мол. раствора HIO_4. Сосуд покрывают, вращают для смешивания жидкостей и оставляют стоять для окисления и диффузии при комнатной температуре 4—5 час.

в) Определение. Во внутреннюю ячейку добавляют 1 каплю раствора крахмала и удаляют несвязанный бисульфит нормальным раствором иода, добавляя последний до стойкой, слабо фиолетовой окраски. Если прибавлено слишком много иода, раствор обесцвечивают каплей $NaHSO_3$ и затем добавляют точное количество иода.

Связанный бисульфит освобождают смешиванием раствора с 200—400 *мг* порошкообразного Na_2HPO_4 и титруют выделившийся бисульфит 0,005 н. раствором иода (см. [683, 684, 685]).

$$1\ мл\ 0{,}005\ н.\ I_2 = 0{,}298\ мг\ треонина.$$

г. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРЕОНИНА С ПЕРИОДАТОМ И *n*-ОКСИДИФЕНИЛОМ (БЛОК И БОЛЛИНГ [104])

Прибор. Применяют 3 пробирки пирекс емкостью 20 × 2,5 *см*, соединенные последовательно, как при промывании газа. Пользуются одновременно двумя приборами.

Первая пробирка каждой группы содержит 20 *мл* концентрированной H_2SO_4 или 2% раствор $NaHSO_3$ для промывания входящего газа; вторая служит для реакции окисления, а третья содержит 15 *мл* концентрированной H_2SO_4 и около 100 *мг* очищенного *n*-оксидифенила (см. раздел А).

Метод. Определенную часть нейтрализованного гидролизата белка (см. раздел А, «Метод»), содержащего 0,03—0,06 *мг* треонина, наливают во вторую пробирку и добавляют 20 *мл* насыщенного раствора $NaIO_4$ в разбавленном боратном буфере — pH 8. Для перегонки ацетальдегида в третью пробирку пропускают умеренный ток воздуха, скорость которого контролируют по газовым часам.

Одновременно во 2-м приборе окисляют стандартный раствор треонина.

Самое определение проводится так, как описано в подразделе А.

Примечание. Вместо предложенного выше раствора периодата можно пользоваться периодатной смесью Шинна и Николе [578] или Уинника [685].

Проведение реакции с периодатом вместо тетраацетата свинца почти во всех отношениях удобнее и может быть рекомендовано для всех случаев, кроме специальных.

Следует отметить, что при употреблении *п*-оксидифенила требуется около 0,03 *мг* треонина, при пользовании прибором Конвея — 0,3 *мг* и при методе титрования — 3,0 *мг* аминокислоты на каждое титрование.

Раздел 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРИНА

История вопроса. Хотя серин был впервые выделен непосредственной кристаллизацией из гидролизата серицина, а затем неоднократно выделялся из большого числа белков эфирным методом Фишера, все же первый простой и надежный метод определения серина в белковых гидролизатах был разработан только в 1941 г. Николе и Шинном [476].

1. ОКИСЛЕНИЕ СЕРИНА ДО ФОРМАЛЬДЕГИДА СПЕЦИФИЧЕСКИМИ ОКИСЛИТЕЛЯМИ

А. ПЕРИОДАТНЫЙ МЕТОД НИКОЛЕ И ШИННА [476]

Основы метода. Белковый гидролизат окисляют в нейтральной или слабощелочной среде периодной кислотой. Образующийся при окислении треонина ацетальдегид отгоняют током воздуха. Образовавшийся из серина формальдегид удерживается в растворе аминогруппами остальных аминокислот. После конца окисления и удаления ацетальдегида связанный формальдегид освобождают подкислением и осаждают 5,5-диметилдигидрорезорцином (Форлендер, [666]).

Метод. а) Гидролиз. 2—5 *г* белка гидролизуют 24 часа 20% соляной кислотой. Избыток кислоты удаляют повторным упариванием в вакууме и гидролизат обесцвечивают небольшим количеством активированного угля.

б) Окисление и удаление ацетальдегида. Определенную часть гидролизата, содержащую 10—20 *мг* серина, окисляют в растворе слабой щелочи периодной кислотой (см. раздел 2, подраздел Б этой главы) в приборе, состоящем из трех последовательно соединенных пробирок.

Первая пробирка служит для проведения окисления, а две последующие, содержащие разбавленный раствор бисульфита, — для улавливания ацетальдегида.

Если одновременно работают с двумя комплектами, то их отделяют друг от друга промывалкой с $NaHCO_3$.

в) Осаждение. После одночасового просасывания газа раствор, содержащий формальдегид, переносят в эрленмейеровскую колбу на 300 *мл* и добавляют 1—2 капли метилового красного. Прибавляют осторожно уксусную кислоту до pH, при котором раствор изменяет окраску от желтого к бледнокрасному. Затем добавляют избыток 0,4% водного раствора димедона (5,5-диметилдигидрорезорцина) и оставляют стоять при комнатной температуре в течение 48—72 час. Осадок фильтруют через воронку со стеклянным фильтром № 4, промывают тщательно холодным раствором димедона и сушат в вакууме. 1 *мг* метилендиметилдигидрорезорцина = 0,3596 *мг* серина, точка плавления 189° (испр.) (Форлендер [666]).

Примечание. Видоизмененный метод определения треонина в присутствии некоторых углеводов, описанный Николе [478], может применяться также для определения в этих смесях серина (см. раздел 2, подраздел Б, *примечания*).

Ряд других веществ, образующих формальдегид при окислении периодатом, как, например, некоторые углеводы и оксилизин, дают ошибочные результаты. Однако, если внести поправку на формальдегид, образовавшийся от окисления посторонних веществ, пользуясь методом ацетилирования Николе [478], то ошибка на оксилизин бывает обычно мала. Исключение составляют определения в желатине и коллагене.

Мартин и Сайндж [438], критикуя этот метод, пишут следующее: «Димедоновый метод, повидимому, непригоден для определения серина и т. д. непосредственно в белковом гидролизате...» Опыты авторов не подтвердили этой суровой критики.

Б. МЕТОД НИКОЛЕ И ШИННА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ БОЙДОМ (МИКРОМЕТОД [119, 120])

Основы метода. Формальдегид, образующийся при окислении серина периодатом, отгоняют в раствор Игрю (1,8)-диокси-3,5-дисульфонафталин; образуется соединение, окрашенное в желтый цвет.

Реактивы. 0,5 мол. раствор $HIO_4 \cdot$ 11,4 *г* $HIO_4 \cdot 2H_2O$ растворяют в воде и доводят раствор до 100 *мл.*

Метиловый красный. Приготовляют насыщенный раствор метилового красного в 0,05 н. соляной кислоте.

Титрованный раствор формальдегида. 100 *г* паральдегида в 100 *мл* воды гидролизуют 20 *мл* 2 н. H_2SO_4 при 90° до полного исчезновения осадка. Муравьиный альдегид перегоняют

с водяным паром. Отгон перегоняют вторично, добавляя 100 *мл* 2 н. H_2SO_4. Полученный таким образом раствор формальдегида имеет приблизительно 6 мол. концентрацию. Если к литру такого раствора добавить 1 *мл* 2 н. H_2SO_4, то концентрация раствора почти не будет изменяться в течение месяца.

Титрованный раствор HCOH готовится следующим образом. Определенную часть раствора (0,2—0,3 *мл*) вносят в 20 *мл* 0,12 н. раствора KCN. Затем прибавляют 25 *мл* 0,100 н. раствора $AgNO_3$ и 3 *мл* HNO_3. Раствор разбавляют до 100 *мл*, фильтруют и 75 *мл* фильтрата титруют 0,1 н. раствором NH_4CNS, применяя в качестве индикатора 5 *мл* насыщенного раствора $Fe_2(SO_4)_3 \cdot (NH_4)_2SO_4$. Титр раствора KCN устанавливают таким же титрованием, но без добавления раствора HCOH.

Затем титрованный раствор разбавляют до содержания 15 γ HCOH в 1 *мл*. Этот раствор приготовляется свежим ежедневно.

Хромотроповая кислота. 1,8-диокси-3,6-дисульфонафталин очищается следующим образом: 25 *г* растворяют в 100 *мл* горячей воды, добавляют 2 *г* $PbCO_3$ и после растворения удаляют свинец сероводородом. Если верхний слой жидкости не будет окрашен в слабожелтый цвет, то добавляют еще некоторое количество $PbCO_3$. Осадок PbS центрифугируют без соприкосновения с воздухом. Хромотроповая кислота выкристаллизовывается при 4°, осадок промывают спиртом и эфиром и сушат в вакууме.

0,1 мол. раствор хромотроповой кислоты. 0,9 *г* кислоты растворяют в 25 *мл* воды, добавляют 50 *мг* $SnCl_2$ и после взбалтывания осадок отделяют центрифугированием. Каждые 48 час. приготовляют свежий раствор.

Метод. а) Окисление. В колбу Кьельдаля на 300 *мл* вносят 4 *мл* 25% раствора $KAsO_2$ и 3 капли раствора метилового красного, затем прибавляют нейтральный раствор серина, содержащий 1—5 *мг* серина, и 2,5—2,8 *мл* 0,5 мол. раствора HIO_4. Как только раствор становится кислым по метиловому красному, прибавление периодной кислоты прекращают. Периодную кислоту прибавляют по каплям при непрерывном осторожном взбалтывании. Раствор разбавляют водой до 70 *мл*.

б) Перегонка. Содержимое колбы перегоняют в течение 10—12 мин. в 5—10 *мл* воды (конец перегонной колбы должен быть погружен в воду в приемнике) до тех пор, пока в колбе Кьельдаля не останется только около 5 *мл* жидкости. Осадок иодата, который выделяется на стенках колбы, смывают взбалтыванием. Дестиллат разбавляют до 100 *мл*.

в) Развитие окраски. Определенную часть раствора, содержащую 40—100 γ формальдегида, переносят в реакционную градуированную пробирку на 50 *мл*. Затем добавляют 0,5 *мл* раствора хромотроповой кислоты и такое количество воды, чтобы

конечный объем жидкости равнялся 17 *мл*. Пробирку охлаждают в ледяной воде и добавляют медленно, в течение 40—45 сек., 10 *мл* концентрированной серной кислоты. Содержимое охлаждают до 0° и доводят серной кислотой до 50 *мл*. Затем реакционную смесь нагревают 10 мин. в кипящей воде, охлаждают до комнатной температуры и в течение часа производят измерения со стандартом, приготовленным аналогичным образом или по стандартным кривым.

Примечание. Авторы указывают, что этот микрометод дает ошибку только в 1—2%. Углеводы и высшие альдегиды не влияют на определение. Однако муравьиный альдегид, образующийся при окислении оксилизина, может привести к повышенным результатам.

2. РАЗНЫЕ МЕТОДЫ

Фромажо и Хайтц [245] заметили, что оксикислоты (молочная, глицериновая и яблочная кислоты), образующиеся при окислении дезаминированной аминокислотной смеси перманганатом, дают ацетальдегид. Определяя ацетальдегид, можно установить приблизительную сумму серина, аланина и аспарагиновой кислоты в гидролизате.

По Рапопорту [537], серин и гликоколь окисляются после дезаминирования разбавленным раствором $KMnO_4$ с образованием гликолевой кислоты. Сумму обеих аминокислот рассчитывают по гликолевой кислоте. Метод, повидимому, неперспективен.

Раздел 4

СОДЕРЖАНИЕ β-ОКСИАМИНОКИСЛОТ В БЕЛКАХ

Все данные по аминокислотам, приведенные ниже, так же как и в предыдущих таблицах, рассчитаны на 16,0% содержание азота. В отличие от прежнего метод в этом случае обозначается буквами Ф и О. Первая означает, что аминокислота (почти всегда — серин) выделена после фракционированной разгонки эфиров по Фишеру. Символ О обозначает один из методов окисления — тетраацетатом свинца или периодатом.

Из таблиц следует, что количества оксиаминокислот, полученные по методу Фишера, обычно являются только небольшой фракцией того количества аминокислоты, которая определена методом окисления. Они скорее служат доказательством присутствия исследуемой аминокислоты в белке.

Содержание β-оксиаминокислот в *белках животных*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Альбуминоиды:					
Желатина	О	Блок — 100	16,0		1,2
Желатина	О	Не опубликовано			1,5
Желатина	О	Мартин — 438	(16,0)		2,0
Желатина	О	Николе — 476	(16,0)	3,3	
Желатина	О	Шинн — 578	(16,0)		1,4
Коллаген	О	Бойд — 120		3,7	
Эластин	О	Бранд — 128	(17,1)		2,5
Желатина (рыба)	О	Не опубликовано	11,8		2,3
Крыса, целое животное	О	Не опубликовано	12,4		4,5
Белки крови:					
Фибрин	О	Не опубликовано	13,4		7,9
Глобин (человек)	О	Не опубликовано	16,2		6,8
Гемоглобин (лошадь)	О	Бойд — 120		5,3	
Гемоглобин (собака)	О	Бойд — 120		5,1	
Серум (человек)	О	Блок — 100	14,9		6,4
Серум (человек)	О	Блок — 105	14,9		6,2
Белки мозга:					
Человек	О	Блок — 105	14,1		5,8
Бык	О	Бич — 59		7,1	5,3
Белки яйца:					
Альбумин	О	Не опубликовано	13,9		4,3
Альбумин	О	Бойд — 120		7,6	
Альбумин	О	Мартин — 438	15,8		3,1
Вителлин	О	Николе — 479	15,3	9,4	4,9
Цельное яйцо	О	Не опубликовано	14,1		4,9
Корма:					
Мясные отходы	О	Не опубликовано			3,9
Мясная мука	О	Не опубликовано	10,6		3,5
Мука из сельди менхеден	О	Не опубликовано	11,6		5,1
Снятое молоко	О	Не опубликовано			4,7
Гормоны, энзимы:					
Инсулин	О	Николе — 476А	15,7	3,6	2,7
Пепсин	О	Бранд — 128	15,4		9,9
Трипсин	О	Бранд — 128	(16,0)		5,8
Химотрипсиноген	О	Бранд — 128	(16,0)		10—11

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Эукератины:					
Рога	Ф	Фишер — 224		1	
Копыта	О	Не опубликовано	15,0		4,9
Шерсть собаки	О	Не опубликовано	15,1		6,1
Шерсть шимпанзе	О	Уинник — 685	16,3		6,6
Псевдокератины:					
Фиброин шелка	Ф	Абдергальден — 20	19,0	1—2	
Фиброин шелка	О	Мартин — 438	18,3		0,8
Фиброин шелка	О	Николе — 475	19,1	11,4	1,3
Серицин шелка	О	Николе — 475	16,5	32,9	9,8
Белки печени:					
Человек	О	Блок — 105	13,6		5,8
Бык	О	Бич — 59		7,3	4,8
Треска	О	Не опубликовано			5,4
Белки молока:					
Казеин	О	Блок — 100	14,7		3,8
Казеин	О	Борчерс — 115	(15,4)		3,6
Казеин	О	Бойд — 120		5,7	
Казеин	О	Мартин — 438	13,4		4,1
Казеин	О	Николе — 476	14,0	5,7	
Казеин	О	Николе — 477	15,8	5,9	4,0
Казеин	О	Николе — 479	(15,8)	7,5	
Казеин	О	Шинн — 578	(14,0)		4,0
Казеин	О	Не опубликовано	12,3	7,6	
Казеин гидролизат	О	Не опубликовано		6,2	4,3
Казеин гидролизат	О	Боллинг — 112	15,5		6,0
β-лактоглобулин	О	Бранд — 128	15,6		6,0
β-лактоглобулин	О	Николе — 477	15,4		5,4
β-лактоглобулин	О	Уинник — 685	14,4		6,0
β-лактоглобулин	Ф	Джонс — 340	15,4	2	
Лактальбумин	О	Николе — 476	13,9	4,9	
Лактальбумин	О	Николе — 477	15,4	4,9	5,4
Лактальбумин	О	Теннис — 613	14,1	4,8	4,0
Казеин	О	Не опубликовано	13,8		5,2
Лактальбумин	О	Не опубликовано	15,2		4,6
Цельное молоко (коровье)	О	Не опубликовано	15,2		4,6
Цельное молоко (женское)	О	Не опубликовано			

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Белки мышц:					
Сердце быка	О	Не опубликовано	14,8		4,0
Сердце быка	О	Бич — 59		5,9	4,7
Мочевой пузырь	О	Не опубликовано	16,0		3,3
Кишечник	О	Не опубликовано	15,3		3,5
Мышцы быка	О	Не опубликовано	16,1		3,5
Мышцы быка	О	Бич — 59		5,4	4,6
Мышцы трески	Ф	Абдергальден — 24	13,6	2	
Миозин	О	Мартин — 438	16,8		3,8
Миоген	О	Мартин — 438			4,2
Мышцы теленка	О	Бич — 59		6,1	5,1
Мышцы ягненка	О	Бич — 59		6,3	5,3
Мышцы цыпленка	О	Бич — 59		4,7	4,7
Белки органов:					
Селезенка	О	Не опубликовано	15,7		3,8
Зобная железа	О	Не опубликовано	15,4		4,1
Легкое	О	Не опубликовано	15,3		3,8
Легкое	О	Бич — 59		6,7	3,8
Поджелудочная железа	О	Не опубликовано	15,5		4,1
Слюнные железы	О	Не опубликовано	15,7		3,5
Семенники	О	Не опубликовано	15,4		3,5
Яичники	О	Не опубликовано	15,8		3,7
Почки	О	Бич — 59		6,1	4,6
Желудок	О	Бич — 59		7,0	3,4

Содержание β-оксиаминокислот в *растительных белках*

Высчитано на 16,0% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Биологически активные белки:					
Тироцидин	О	Кристенсен — 162	14,5		0,0
Tobacco virus	О	Росс — 557	15,9	7,8	6,3
Tobacco virus	О	Росс — 556	15,9	6,2	6,3
Белки кукурузы:					
Цельное зерно (белая)	О	Не опубликовано			3,7

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Цельное зерно (желтая)	О	Не опубликовано			3,4
Глютин (белая)	О	Не опубликовано	10,9		4,1
Глютин (желтая)	О	Не опубликовано	12,7		3,9
Глютин (мука)	О	Не опубликовано			3,2
Зародыш (белая)	О	Не опубликовано	11,8		4,7
Зародыш (желтая)	О	Не опубликовано	12,8		4,0
Зеин	О	Борчерс —115	15,5		2,5
Зеин	О	Мартин —438	16,3		2,3
Остатки после выделения зеина	О	Не опубликовано	10,9		4,0
Отруби	О	Не опубликовано			4,0
Альбумины	О	Не опубликовано	12,6		3,9
Пищевые продукты:					
Хлеб	О	Не опубликовано	11,3		2,8
Мука	О	Не опубликовано	13,1		2,7
„Cerevim“	О	Не опубликовано			2,1
„Wheatena“	О	Не опубликовано	9,5		3,9
„Ralston“	О	Не опубликовано	12,3		3,8
„Cream Farina“	О	Не опубликовано			3,3
„Cream of Wheat“	О	Не опубликовано	13,6		2,7
„Puffed wheat sparkies“	О	Не опубликовано			3,8
Белки листьев:					
Листья	О	Мартин —438	13,1		4,1
Люцерна	О	Не опубликовано	10,6		5,4
Разные:					
Глобулин хлопков. семени	О	Фонтэн —238	17,2	2,7	2,7
Мука хлопков. семени	О	Не опубликовано	10,9		3,0
Льняная мука (Linseed)	О	Не опубликовано			5,1
Мука земляного ореха	О	Не опубликовано	10,4		1,5
Арахин „ „	О	Броун —133	18,0	4,6	2,3
Арахин „ „	О	Мартин —438			2,1
Конархин „ „	О	Броун —133	18,0	4,4	1,8
Мука соевая	О	Не опубликовано			4,0
Рицин из клещевины	О	Мартин —438	(17,0)		2,7
Глобулин кокосовых бобов	О	Джонс —334	18,5	1—2	
Дрожжи пивные	О	Не опубликовано			5,0
Дрожжи сухие, размоченные	О	Не опубликовано			5,0

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Серин, %	Треонин, %
Льняная мука из натур. льняного семени	О	Не опубликовано			4,0
Мука овсяная	О	Не опубликовано			3,6
Рис	О	Не опубликовано			3,9
Белки пшеницы:					
Зародыш	О	Не опубликовано			3,8
Мука	О	Не опубликовано	13,1		2,7
Глютин	О	Мартин —438	13,5		2,3
Глиадин	О	Уинник —685	17,6		2,7
Пшеница цельная	О	Не опубликовано			3,3

Глава V

„ЛЕЙЦИНЫ“:

ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН И ВАЛИН

	Лейцин	Изолейцин	Валин
Эмпирическая формула	$C_6H_{13}O_2N$	$C_6H_{13}O_2N$	$C_5H_{11}O_2N$
Оптическая форма . .	*l*	*d*	*d*
Молекулярный вес . .	131,11	131,11	117,10
Углерод	54,92	54,92	51,24
Водород	9,99	9,99	9,47
Азот	10,69	10,69	11,96
Кислород	24,41	24,41	27,33
Точка плавления . . .	293—5°	280°	315° (испр.)

Раздел 1

ВВЕДЕНИЕ

В то время как для определения основных, ароматических и серусодержащих аминокислот имеется ряд удовлетворительных методов (см. гл. I, II, III) и для треонина разработан сравнительно простой и точный способ окисления, для определения «лейцинов» предложено лишь несколько трудно выполнимых методов, которые оставляют желать много лучшего.

Имеющиеся данные приводят к выводу, что «лейцины» заметно не разрушаются при кислотном гидролизе даже в присутствии углеводов; однако следует воздержаться от окончательного суждения по этому вопросу до получения новых более точных количественных данных. Опыты Леймана и др. (433В и частное сообщение) указывают на то, что потери этих трех аминокислот вследствие образования гуминов относительно малы.

Раздел 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА

1. МЕТОД ФИШЕРА ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ЭФИРОВ [222, 224]

Основы метода. Более подробное описание метода Фишера по разделению гидрохлоридов эфиров аминокислот дано в соответствующей литературе, здесь же достаточно указать, что эфиры лейцина, изолейцина и валина перегоняются в более низко кипящих фракциях (Осборн, Джонс и Ливенуортс [497]). Лейцин и изолейцин отделяют от валина осаждением ацетатом свинца (Левин и Ван-Сляйк [415]). Количество лейцина и изолейцина в смеси определяют по оптическому вращению. Затем отделяют валин от аланина путем осаждения последнего фосфорновольфрамовой кислотой (Левин и Ван-Сляйк [417]).

Ход работы. а) Гидролиз. Относительно большое количество белка (250 до 1000 *г*) подвергают гидролизу с 18—36% соляной кислотой в течение 8—36 час. Избыток кислоты удаляют концентрированием в вакууме.

б) Отделение аминокислот кристаллизацией. Часть глютаминовой кислоты удаляют из гидролизата прямой кристаллизацией в виде хлоргидрата по Глазивец и Габерман [300]. Гидролизат нейтрализуют, после чего выпадает часть тирозина.

в) Этерификация. Остаток гидролизата этерифицируют HCl в абсолютном спирте. Неорганическая кислота удаляется одним из следующих реактивов: NaOH — K_2CO_3, $Ba(OH)_2$, PbO, NH_3 или C_2H_5ONa. Свободные эфиры аминокислот извлекают эфиром.

г) Перегонка. В тщательно проведенном исследовании яичного альбумина Осборн, Джонс и Ливенуортс [497] нашли, что эфиры валина, лейцина и изолейцина содержатся во фракции, переходящей при температуре бани в 100° и 10 *мм* давления. Эфиры лейцина и изолейцина перегоняются также со следующей фракцией при 107° и 0,40 *мм* давления. После гидролиза эфиров аминокислот кислота, взятая для гидролиза, удаляется количественно и раствор выпаривают досуха. Из полученного сухого остатка пролин извлекают этиловым спиртом. В остатке находятся лейцин, изолейцин, валин и аланин.

д) Отделение лейцина и изолейцина от валина. Левин и Ван-Сляйк [415] нашли, что возможно отделить лейцин и изолейцин от валина и других аминокислот во фракции низкокипящих эфиров путем добавления ацетата свинца в небольшом избытке против теории при хорошем размешивании. Они давали 4 *мл* 1,1 М раствора ацетата свинца (уд. в. 1,2540 при 20°) на 1 *г* лейцина или изолейцина. Смесь аминокислот растворяли в горячей воде с минимальной добавкой аммиака. Приблизительное коли-

чество вышеуказанных аминокислот в растворе было вычислено на основании содержания углерода по формуле

$$\text{лейцин} + \text{изолейцин} = \frac{\%\ \text{углерода} - 51{,}24}{3{,}68} \times 100.$$

Свинцовый осадок отделяли после охлаждения в течение одного часа или более, промывали холодным 90% этиловым спиртом и эфиром и определяли в нем содержание свинца.

е) Вычисление содержания лейцина и изолейцина. После удаления свинца из осадка количества лейцина и изолейцина в смеси были определены по оптическому вращению раствора в 20% HCl:

$$\%\ \text{изолейцина} = 100 \times \frac{\text{вращение} - 15{,}6}{21{,}8},$$

$$\%\ \text{лейцина} = 100 \times \frac{37{,}4 - \text{вращение}}{21{,}8}.$$

ж) Отделение валина от аланина. После удаления свинца из фильтрата от осаждения лейцина — изолейцина в растворе обычно находится неразделимая смесь валина с аланином. При условии, что смесь содержит не более 50% валина, можно, согласно Левину и Ван-Сляйку [417], применить для их разделения следующий прием.

Растворяют аминокислоты в 10% H_2SO_4 из расчета 30—40 *мл* на грамм валина. Затем раствор нагревают до 90° и добавляют 14 *г* фосфорно-24-вольфрамовой кислоты (очищенной согласно Винтерштейну [686]) на каждый грамм аланина. Дополнительно вводят еще 1 *г* фосфорновольфрамовой кислоты на 5 *мл* раствора, охлаждают раствор до 0° в течение 24 час. и отделяют осадок фосфовольфрамата аланина.

Осадок растворяют при нагревании в том же объеме 10% серной кислоты, как и при первом осаждении, и добавляют в горячий раствор 1 *г* фосфорновольфрамовой кислоты на каждые 4—5 *мл* жидкости. Кристаллизация проходит при 0° в течение 24 час. Осадок отделяют, промывают холодной 20% фосфорновольфрамовой кислотой в 10% серной и разлагают ацетатом свинца. Избыток свинца удаляют серной кислотой и выделяют аланин путем кристаллизации из малого объема.

Левин и Ван-Сляйк указывают, что при этих условиях можно выделить от 90 до 95% чистого аланина, если ввести поправку в 0,15 *г* аланина на каждые 100 *мл* раствора.

После удаления неорганических примесей валин выделяют из фильтрата, полученного от осаждения фосфорновольфрамовой кислотой. Валин осаждают из водного раствора ацетоном при 80% концентрации последнего. При этом методе удается выделить обратно лишь 75—85% валина.

Примечание. Большая трудоемкость метода Фишера при возможности получать лишь минимальные величины заставила почти полностью отказаться от него за последние годы. Популярность этого метода очень упала после того, как Осборн и Джонс [501] в 1910 г. нашли, что даже в руках опытных знающих экспериментаторов он не давал возможности выделить более 80—90% лейцина и 40% валина от содержания их в смеси чистых аминокислот. Два года позднее Абдергальден и Вейль [19] получили выход в 65—70% лейцина и 65—70% валина при тех же условиях.

Однако, несмотря на свои недостатки, этот метод привел к некоторым ценным результатам в вопросах питания.

2. ОТДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА ОТ ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА ПОСРЕДСТВОМ МЕДНЫХ СОЛЕЙ (ЭРЛИХ [207])

История вопроса. В 1908 г. Феликс Эрлих и Вендель [207] опубликовали результаты опытов по разделению и выделению лейцина, изолейцина и валина из ряда белков. При проведении этого исследования они отметили, что медная соль лейцина нерастворима в метиловом спирте, тогда как одна часть изолейцина растворяется в 55 частях метанола при 17°, а 1 часть валина — в 52 частях его при 18°. Этими результатами воспользовались для отделения лейцина и изолейцина от валина (Бразье [129]).

А. МЕТОД МЕДНЫХ СОЛЕЙ ЭРЛИХА В ВИДОИЗМЕНЕНИИ БРАЗЬЕ [129]

Основы метода. Переводят аминокислоты в их медные соли и тщательно сушат. Медные соли изолейцина и валина извлекают метанолом, медная соль лейцина остается в осадке.

Метод. Белок гидролизуют 8 н. серной кислотой и удаляют неорганическую кислоту при помощи барита. Нагревают раствор аминокислот до кипения и добавляют избыток карбоната меди. Затем раствор целиком вместе с избытком $CuCO_3$ упаривают на паровой бане до густого сиропа и тщательно высушивают соли, осторожно добавляя избыток ацетона. Сухие соли растирают в порошок и сушат в течение нескольких часов в шкафу при 110°. Если нужно, их после этого еще раз растирают и экстрагируют повторно сухим метанолом до получения бесцветного фильтрата. В раствор при этом переходят медные соли изолейцина, валина, оксивалина (?), пролина и некоторые другие. Основная масса лейцина остается в осадке.

Примечание. Метод медных солей Эрлих-Бразье может оказаться полезным как предварительная стадия при определении лейцина, изолейцина и валина при помощи других приемов.

Уллей и Петерсон [689] отмечают, что некоторое количество медной соли лейцина даже в горячих разбавленных вод-

ных растворах может осесть с избытком $CuCO_3$ или $Cu(OH)_2$, применяющихся для приготовления медных солей. Поэтому избыток $CuCO_3$ не следует отбрасывать, как это часто делается.

Шрайвер и Бэстон [571] показали, что после некоторого нагревания сухих цинковых солей в сушильном шкафу цинковая соль лейцина становится нерастворимой в воде, а соль валина остается растворимой.

3. ОТДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА ОТ ВАЛИНА И ИЗОЛЕЙЦИНА ПРИ ПОМОЩИ НАФТАЛИН-β-СУЛЬФОКИСЛОТЫ

История вопроса. Фишер и Бергель [221] нашли, что нафталин-β-сульфопроизводные *l*-лейцина очень трудно растворимы в холодной воде, но растворяются в отношении 1 : 400 в кипящей воде.

А. ПРЯМОЕ ОСАЖДЕНИЕ ЛЕЙЦИНА НАФТАЛИН-β-СУЛЬФОКИСЛОТОЙ (БЕРГМАН И ШТЕЙН [71])

Метод (по Бергману и Штейну). Нагревают раствор аминокислот в 1/м HCl (до 80—95°) и вводят избыток нафталин-β-сульфокислоты в равном объеме горячей воды. Через 3 суток при 0° осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из воды.

Точка плавления чистого нафталинсульфоната лейцина составляет 187—189°, N 3,9%.

Примечание. Есть указания на то, что нафталинсульфонаты изолейцина и валина значительно более растворимы [71], чем производное лейцина. Такое разделение значительно повысило бы точность окислительных методов определения лейцина и валина после гидролиза сульфонатов.

4. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ АЦЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЛЕЙЦИНА ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА

А. РАЗДЕЛЕНИЕ ЭКСТРАКЦИЕЙ ПО ПРИНЦИПУ ПРОТИВОТОКА (МАРТИН И САЙНДЖ [437])

Принцип метода. Для разделения ацетилмоноаминокислот применяется усовершенствованный экстрактор для жидкостей. Используется различная растворимость ацетильных производных в воде и хлороформе. Метод претендует на более четкое разделение лейцина, изолейцина и валина, чем при разгонке их эфиров. Детали этого способа даны в оригинальной литературе.

Б. ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ЖИДКОСТИ (ПО МАРТИНУ И САЙНДЖУ [439]) *

Принцип. Колонка из силикагеля, насыщенного водой, служит механической опорой для водной фазы, в которой ацетилированные аминокислоты разделяются на основании известного способа русского ученого Цвета.

Реактивы. Силикагель. Один объем продажного жидкого стекла растворяют в двух объемах воды и осаждают окись кремния 10 н. соляной кислотой по метилоранжу, добавляя его в раствор. Через несколько часов студень отфильтровывают и промывают дестиллированной водой до исчезновения окраски индикатора. Дают сырому гелю стареть на фильтре в течение нескольких дней, еще раз промывают и сушат при 110°.

Обрабатывают силикагель 70% по весу (влаж/вес) воды, насыщенной метилоранжем. Получающийся розовый порошок должен иметь вид сухого. 5 *г* этого порошка суспендируют в 35 *мл* хлороформа, предварительно насыщенного водой с содержанием 1% по объему нормального бутанола. Желтый гель переливают в трубку размером 30 × 1 *см* с пористым дном. Снизу трубка может закрываться краном, но хлорофому дают свободно стекать.

Готовая к употреблению колонка содержит метилоранж, удерживаемый водной фазой.

Проведение опыта. а) Гидролиз. Гидролизуют 100 *мг* белка с 6 н. HCl и удаляют избыток кислоты в вакууме. Подщелачивают гидролизат по тимолфталеину 6 н. едким натром и концентрируют до жидкого сиропа.

б) Ацетилирование. Щелочной раствор обрабатывают в течение 15 мин. 10 *мл* 2 н. NaOH и 1 *мл* уксусного ангидрида, добавляя реактивы равными порциями в пять приемов. Между добавлениями раствор встряхивают и охлаждают льдом. После окончания реакции оставляют раствор щелочным по тимолфталеину в течение 10 мин., а затем подкисляют 1 *мл* 10 н. H_2SO_4.

в) Экстракция. Раствор ацетилированных аминокислот концентрируют в вакууме до 5 *мл* и доводят серной кислотой (10 н.) до кислой реакции по тимолсинему. Переносят раствор в маленькую делительную воронку (конечный объем 10 *мл*) и экстрагируют 5 раз, беря на каждое извлечение пятикратный объем хлороформа. Хлороформный раствор фильтруют и растворитель отгоняют. Остаток растворяют в 10 *мл* этилового спирта.

г) Хроматографическое разделение. Спиртовый раствор, эквивалентный 30 *мг* белка, упаривают досуха в вакуум-эксикаторе над серной кислотой и натронной известью. Остаток растворяют в минимальном количестве хлороформа, содержащего 1% *н* бутанола. Хлороформный раствор осторожно, при помощи пипетки,

* См. гл. IX, раздел 2, подраздел 12 Г.

переносят на колонку с силикагелем, спуская жидкость по стенкам трубки. Полосы проявляют при помощи свежей порции растворителя. Адсорбированный индикатор указывает положение каждой полосы. Цвет его переходит из желтого через оранжевый в розовый. По мере того как полосы выходят из колонки, приемник под ней сменяется.

д) Гидролиз. Удаляют хлороформ из каждой фракции и гидролизуют пептиды кипячением с 2 н. HCl с обратным холодильником в течение 3 час.

Примечание. Считается, что первая полоса содержит фенилаланин; вторая — лейцин и изолейцин и третья — валин, пролин и метионин. Этот метод может оказаться полезным в качестве первичного разделения при окислительных методах, которые будут изложены ниже.

Кач, Кук и Гейльброн [150] описали интересное применение этого метода.

5. МИКРОМЕТОДЫ ОКИСЛЕНИЯ ФРОМАЖО [246] И БЛОКА [106]

Основы метода. Оксикислоты, получающиеся при дезаминировании белковых гидролизатов, окисляют двумя различными способами. Как лейцин, так и валин переходят при этом в ацетон, но в различных количествах, в зависимости от условий окисления. Это дает возможность рассчитать содержание лейцина и валина в смеси. Содержание изолейцина находят по выходу этилметилкетона по методу Фабини [215].

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМ ОКИСЛЕНИЕМ ХРОМОВОЙ КИСЛОТОЙ ПО ФРОМАЖО, ГЕЙЦУ И МУРГУ [246, 247]

Основы метода. Протекающие реакции лучше всего изобразить следующими уравнениями.

$$(CH_3)_2{>}CHCHNH_2COOH + HONO \longrightarrow (CH_3)_2{>}CHCHOHCOOH$$

$$(CH_3)_2{>}CHCHOHCOOH + O\,(H_2Cr_2O_7) \longrightarrow CH_3COCH_3 + \text{другие продукты окисления.}$$

$$(CH_3)_2{>}CO + 2C_6H_4{<}{}^{CHO}_{OH} + KOH \longrightarrow$$

$$\longrightarrow C_6H_4{<}{}^{CH=CH-CO-CH=CH}_{OK} \quad {}_{KO}{>}C_6H_4 \quad \text{K — соль ди-}o\text{-оксидибензальацетона}$$

Конденсация ацетона с салициловым альдегидом в щелочной среде была впервые предложена Фабини [216] в 1900 г.

Метод. 1) Определение валина в отсутствие лейцина.

а) Дезаминирование. Смесь аминокислот, содержащая от 2 до 20 *мг* валина и 50 *мг* других аминокислот (кроме лейцина), дезаминируют в 75 *мл* воды с 2,5 *мл* 1 н. H_2SO_4 и 15 *мл* 2,5% $NaNO_2$ при 100° в течение 15 мин. Избыток HNO_2 разрушают добавкой 15 *мл* 7,5% раствора мочевины. Раствор упаривают до объема менее 10 *мл*.

б) Окисление под давлением. Раствор оксикислот переносят в круглодонную колбу на 150 *мл* и разводят водой до 20 *мл*. Добавляют 4 *мл* ледяной уксусной кислоты и 5 *мл* 10% CrO_3. Колбу закрывают стеклянной притертой пробкой с краном. Пробку крепко привязывают проволокой и колбу погружают в кипящую воду на 2—5 час., после чего охлаждают сперва водой, а затем льдом. Снимают пробку и заменяют ее насадкой для перегонки. Отгоняют около $^2/_3$ объема жидкости в мерную колбу, нейтрализуют уксусную кислоту в отгоне едким кали и доводят объем до 100 *мл*.

в) Прямое окисление. Помещают 5 *мл* 10% CrO_3 в круглодонную колбу на 150 *мл* с насадкой для перегонки Клайзена. Раствор оксикислот (объем 40—45 *мл*) добавляют по каплям в равномерно кипящую хромовую кислоту. Скорость добавления регулируют так, чтобы объем жидкости в колбе для окисления оставался приблизительно одинаковым в течение 25 мин. перегонки. Отгон, содержащий ацетон, собирают в колбу Эрленмейера на 150 *мл*, которую охлаждают льдом. До начала перегонки в колбу наливают 10 *мл* ледяной воды. Последние следы оксикислот споласкивают в колбу для окисления 5—10 *мл* воды. Отгон нейтрализуют KOH и разводят до 100 *мл*.

г) Определение ацетона. Для определения ацетона в отгоне пользуются видоизменением Урбака [624] метода Фабини [216]. 2 *мл* 11,3 н. KOH (63,6 *г* KOH в 100 *мл* воды) и 1 *мл* спиртового раствора салицилового альдегида (10 *мл* перегнанного альдегида в 142 *мл* 95% этанола) вносят в 2 *мл* отгона. Раствор помещают в баню при 50° на 1 час, перемешивая его время от времени. Через 60 мин. раствор охлаждают в бане со льдом в течение 5 мин. и доводят объем водой до 15 *мл*. Измеряют окраску с фильтром 530 μ и сравнивают со стандартной кривой для ацетона. Окраска пропорциональна содержанию ацетона в пределах 0,08 до 0,80 *мг*.

д) Выход. Валин дал 61% теоретического выхода при окислении под давлением и 69% ожидаемого количества при прямом окислении. Серин, аспарагиновая кислота, гликоколь, цистеин, изолейцин, глютаминовая кислота, тирозин и триптофан не влияли на выход ацетона из валина в пределах 1—12 *мг* валина.

2) Определение лейцина в отсутствие валина.

Это определение проводится так же, как описано для валина,

но выход ацетона другой. Так, Фромажо и Мург [247] нашли, что при окислении под давлением лейцин дает 48% ожидаемого количества ацетона, а при прямом окислении — 26%.

3) Определение лейцина и валина в смеси.

Определенные объемы смеси дезаминируют и окисляют по обоим методам — «под давлением» и «прямым». Затем, зная коэфициенты окисления из ряда контрольных опытов на валине и лейцине порознь, можно вычислить из содержания ацетона в отгоне количество лейцина и валина в смеси.

Расчеты.

Если x — теоретическое количество ацетона из валина,
y — теоретическое количество ацетона из лейцина,
a — количество ацетона при окислении под давлением,
b — количество ацетона при прямом окислении,
u — количество ацетона из валина под давлением,
u' — количество ацетона из валина при прямом окислении,
v — количество ацетона из лейцина под давлением,
v' — количество ацетона из лейцина при прямом окислении, то

$$x = \frac{a - vy}{u} \quad \text{и} \quad y = \frac{u'/u\,(a - b)}{u'/u\,(v - v')}.$$

Если практически $u = 0{,}611$; $u' = 0{,}690$; $v = 0{,}479$ и $v' = 0{,}258$, то

$$x = \frac{a - 0{,}479y}{0{,}611} \quad \text{и} \quad y = \frac{1{,}13a - b}{0{,}283}$$

и валин $= 2{,}02x$: лейцин $= 2{,}26y$.

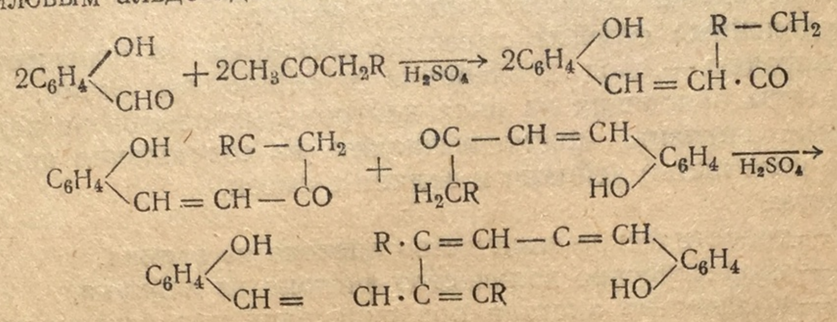
Примечания. Значения для четырех коэфициентов чисто эмпирические и зависят от условий эксперимента; поэтому они различны в каждой лаборатории. Фромажо и Гейц [246] особенно подчеркивают, что каждый исследователь должен сам для себя установить эти 4 коэфициента в строго определенных условиях.

Согласно Фромажо и Гейц [246], при соблюдении этих правил возможно с достаточной точностью определить содержание лейцина и валина, когда каждый из них составляет от 2 до 20 *мг* в смеси аминокислот. Ошибка достигает ±26% (Фромажо и Гейц [246]); в более поздней работе Фромажо и Мурга [247] ошибка не превышает ±5%. См. также «Дополнения» (стр. 380).

Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМ ОКИСЛЕНИЕМ (БЛОК, БОЛЛИНГ И КОНДРИТЦЕР [106, 104])

Принцип метода. Смесь аминокислот дезаминируют азотистой кислотой и определенные объемы полученной смеси оксикислот окисляют хроматом или перманганатом. Содержание лейцина и валина рассчитывают из выходов ацетона после окисления CrO_3

и $KMnO_4$ в основном по Фромажо. Изолейцин находят из выхода этилметилкетона, который определяют с помощью реакции с салициловым альдегидом по Фабини в кислой среде [215].



Реактивы. 4 н. нитрит натрия: 28 *г* $NaNO_2$ растворяют в 100 *мл* воды.

Фосфатный буфер (мол.): 408 *г* KH_2PO_4 и 685 *г* $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ растворяют в 6 *л* воды. pH раствора должен быть около 6,8.

Салициловый альдегид: 16 *мл* перегнанного салицилового альдегида (химически чистый для анализа) разводят абсолютным спиртом до 250 *мл*. Рекомендуется готовить этот реактив свежим каждый день.

15% сульфат ртути: 300 *г* $HgSO_4$ суспендируют в 800 и до 900 *мл* 7 н. H_2SO_4, добавляют 310 *мл* воды и встряхивают до полного растворения. Разбавляют раствор 7 н. H_2SO_4 до 2000 *мл* и фильтруют в случае надобности. Таким образом получается 15% раствор $HgSO_4$ в 6 н. H_2SO_4 или реактив Дениже (Фолин и Чиокалтен [232]).

Проведение определения: 1) Аэрация (макро)

а) Гидролиз. Гидролизуют 2—3 *г* белка с 8—10 объемами 18% HCl с обратным холодильником в течение 16—20 час. Гидролизат концентрируют в вакууме досуха для удаления избытка кислоты и ацетона, который мог быть введен при сушке белка. Остаток растворяют в 50 *мл* воды.

б) Дезаминирование. В колбе Эрленмейера на 125 *мл* отмеривают по 5 или 10 *мл* раствора и добавляют воды до 10 *мл*. Дезаминирование аминокислот проводят при комнатной температуре в течение 10 мин. с 5 *мл* 4 н. $NaNO_2$ и 2 *мл* H_2SO_4 (1 : 3). Избыток HNO_2 разрушают путем нагревания колб на паровой бане в течение 10 мин. Раствор нейтрализуют приблизительно до pH = 4 с 20% NaOH.

в) Окисление хромовой кислотой. Растворяют 2 *г* $K_2Cr_2O_7$ в 20 *мл* воды в пробирке размером в 3 × 20 *см*, через которую пропускается медленный ток воздуха, уносящий образовавшиеся

кетоны в три последовательно присоединенные ловушки. Во все время опыта ловушки находятся в охладительной смеси. Окислительный раствор нагревают до кипения (микрогорелка) и раствор оксикислот вводят при помощи бюретки (количество оксикислот не должно превышать эквивалент 50 *мг* белка) с такой скоростью, что объем жидкости в пробирке остается приблизительно на одном уровне. Добавление это требует около 30 мин. Продувание и умеренное кипячение продолжают еще 30 мин., пока объем в пробирке не упадет до менее 10 *мл*. Водные растворы из ловушек сливают вместе и доводят до объема в 100 *мл*.

г) Перманганатное окисление. 2 *г* $KMnO_4$ растворяют в 20 *мл* мол. фосфатного буфера, pH — 6,8. Раствор нагревают до кипения, пускают через реакционную пробирку медленный ток воздуха и прибавляют из бюретки раствор оксикислот (в количестве, эквивалентном не более 25 *мг* белка). Техника введения раствора и окисления такая же, как описано выше в *в*). Водный раствор кетонов доводят до объема в 100 *мл*.

д) Определение ацетона по Куку и Смиту [171]. Определенный объем раствора кетонов, обычно 75 *мл*, с содержанием не менее 1,5 *мг* ацетона разбавляют водой до 130 *мл*. Добавляют 10 *мл* H_2SO_4 (1 : 1) и 35 *мл* 15% $HgSO_4$ в 6 н. H_2SO_4. Раствор энергично кипятят с обратным холодильником в течение часа. Отделяют осадок ацетонного соединения сульфата ртути, фильтруют горячий раствор через тарированный стеклянный пористый тигель № 4. Тщательно промывают осадок водой, сушат тигель при 110° и охлаждают его в эксикаторе. Фильтрат и промывные воды сохраняют для определения метилэтилкетона, который при данных концентрациях не осаждается сульфатом ртути.

Ацетон = 0,05 × вес ацетонного соединения сульфата ртути.

е) Определение метилэтилкетона. Фильтрат, оставшийся от осаждения ацетона сульфатом ртути, разводят водой так, чтобы 1 *мл* содержал приблизительно 0,01 *мг* метилэтилкетона. Определенный объем этой жидкости разбавляют водой до 8 *мл*, добавляют 4 *мл* абсолютного спирта, охлаждают раствор до 0° и приливают 4 *мл* крепкой H_2SO_4. Опять охлаждают раствор в ледяной воде и прибавляют к нему 2 *мл* спиртового раствора салицилового альдегида. Пробирку тщательно закупоривают и, размешав содержимое, ставят на 18 час. в водяную баню при 55°. В случае образования осадка его отделяют центрифугированием или дают ему осесть на дно измерительной пробирки. Окраску измеряют на фотоэлектрическом фотометре Ивелина или подобном ему приборе с фильтром 520 μ по сравнению с контрольным опытом из одних реактивов, приготовленных в тех же условиях. Ввиду неточности этого колориметрического метода все определение метилэтилкетона следует проводить по крайней мере на трех параллельных растворах и при двух разведениях.

Стандартную кривую следует установить при помощи чистого метилэтилкетона в разбавленном сульфате ртути в пределах от 0,005 до 0,05 *мг* кетона.

2) Дестилляция (микро)

а) Гидролиз. 100—200 *мг* белка гидролизуют с обратным холодильником с 3 до 5 *мл* HCl (1 : 1) в течение 16—20 час. Гидролизат упаривают досуха для удаления возможных следов ацетона, оставшихся в белке, и разводят остаток до 100 *мл*.

б) Дезаминирование. В колбы Эрленмейера емкостью в 125 *мл* отмеривают 10 порций кислого раствора в количествах, эквивалентных 10 *мг* белка, для окисления хроматом и вдвое меньшие количества для перманганатного окисления. Объем всюду доводится до 10 *мл* водой, и аминокислоты дезаминируются в течение 10 мин. при помощи 2 *мл* 4 н. $NaNO_2$ и 2 *мл* H_2SO_4 (1 : 3). По окончании реакции избыток HONO разрушают нагреванием на паровой бане в течение 10 мин. Сильно кислые растворы нейтрализуют 20% едким натром приблизительно до pH 4, т. е. до слабокислой реакции по красной бумаге конго.

в) Окисление бихроматом калия. Растворы оксикислот количественно переносят в колбы Кьельдаля емкостью в 100 *мл* при помощи 20 *мл* водного 4% раствора $K_2Cr_2O_7$ и окисляют их путем перегонки на слабом огне, применяя прибор Хенгара (Hengar) для микрокьельдаля. Этот прибор является изменением прибора Фолина и Райта [229]. Дестиллат собирают в колбе Эрленмейера на 300 *мл*, содержащей 10 *мл* ледяной воды. Колба в течение всей перегонки охлаждается в охладительной смеси. Перегоняют около 25 *мл* за 20 мин. и затем разводят отгон точно до 50 *мл*.

г) Перманганатное окисление. Эта операция проводится в указанном выше аппарате и отличается тем, что в качестве окислителя берут 20 *мл* 1% $KMnO_4$ в фосфатном буфере (1/M) с pH 6,8. В этом случае отгоняют почти всю жидкость в течение 45 мин. и разводят отгон до 50 *мл*.

д) Определение ацетона. Отмеривают определенную часть отгона с содержанием около 0,025 *мг* ацетона в измерительную пробирку Ивелина (пробирка емкостью 17 × 2,5 *см*) и разводят до 8 *мл* водой. Затем добавляют 8 *мл* 40% NaOH и 1 *мл* свежеприготовленного спиртового раствора салицилового альдегида, тщательно взбалтывая после каждого добавления. Крепко закупоривают пробирку и помещают ее на 30 мин. в водяную баню при 55°. На ночь оставляют ее в темноте при комнатной температуре или же дают постоять 2 часа при 55°, после чего сразу колориметрируют. Окраску измеряют по отношению к контрольному опыту на реактивах с фильтром 520 μ.

Если окраска, полученная на стандартном ацетоне, не совпадает с установленной кривой, то в неизвестное количество вносится соответствующая поправка. Все определения следует проводить с параллельными определениями.

Окраска пропорциональна концентрации ацетона в пределах 0,005—0,04 *мг*. Метилэтилкетон в этих условиях не дает окраски, если присутствует не в очень большом количестве (Фромажо и Гейц [246]).

е) Определение метилэтилкетона в присутствии ацетона. Определенный объем дестиллата с содержанием около 0,03 *мг* кетона отмеривают в измерительную пробирку Ивелина, разбавляют водой до 8 *мл* и приливают 4 *мл* абсолютного спирта. Раствор охлаждают до 0°, добавляют 4 *мл* концентрированной H_2SO_4, опять охлаждают в ледяной воде и вводят 2 *мл* спиртового раствора салицилового альдегида. После добавления каждого реактива тщательно размешивают. Пробирки плотно закупоривают и помещают в водяную баню при 55° на 18 час. Окраску измеряют со светофильтром в 520 μ, сравнивая с контрольным опытом на одних реактивах. Проводятся по три параллельных определения, и одновременно с опытом для контролирования методики определяют окраску раствора стандартного метилэтилкетона.

Расчеты. 1) Вычисление содержания лейцина и валина

При строго постоянных условиях окисления для расчетов содержания лейцина и валина в смеси можно пользоваться следующими формулами:

$$\text{ацетон}_{K_2Cr_2O_7} = F^1 + F^2,$$

$$\text{ацетон}_{KMnO_4} = F^3 + F^4,$$

где ацетон $_{K_2Cr_2O_7}$ обозначает количество ацетона, образовавшегося при окислении хроматом, а ацетон $_{KMnO_4}$ — количество ацетона при перманганатном окислении;

F^1 — фракция валина, превращенная в ацетон с $K_2Cr_2O_7$;
F^2 — фракция лейцина, превращенная в ацетон с $K_2Cr_2O_7$;
F^3 — фракция валина, превращенная в ацетон с $KMnO_4$;
F^4 — фракция лейцина, превращенная в ацетон с $KMnO_4$.

Лейцин $= 2,26 \times$ ацетон, образовавшийся из лейцина.
Валин $= 2,02 \times$ ацетон, образовавшийся из валина.

2) Вычисление содержания изолейцина из количества метилэтилкетона в отсутствие ацетона

Изолейцин $= 1,82 \times \frac{100}{F} \times$ метилэтилкетон, где F — процент теоретического выхода этилметилкетона из изолейцина.

3) Вычисление содержания изолейцина при совместном присутствии ацетона и метилэтилкетона в растворе

Если для определений были применены микродестилляция или микроаэрация (т. е. прибор для продувания с применением количества белка и реагентов, в 10 раз меньшего, чем в макроприборе), то образовавшегося количества ацетона недостаточно для весового определения его с $HgSO_4$.

Ацетон в описанных условиях определения метилэтилкетона с салициловым альдегидом в кислой среде дает лишь 26% интенсивности окраски, получаемой от равного по весу количества метилэтилкетона. Так как последний в щелочной среде не дает совсем окраски с салициловым альдегидом, то нетрудно определить оба кетона при их совместном присутствии.

Изолейцин (неиспр.) $= 1{,}82$ $(E - 0{,}26 \times \text{ацетон})$, где E — общая окраска, полученная при реакции с салициловым альдегидом в кислой среде, перечисленная на изолейцин по стандартной кривой для метилэтилкетона. Ацетон можно определить в отдельной порции того же раствора по реакции с салициловым альдегидом в щелочной среде или же другим подходящим методом. Этот расчет дает неисправленную величину для изолейцина. Но так как окисление его также не проходит количественно, то полученная неисправленная величина должна быть разделена на процент метилэтилкетона, образующийся из определенных количеств аминокислоты в данных условиях окисления.

Примечания. Хотя методы окисления по Фромажо, Гейцу и Мургу, а также по Блоку и Боллингу для микроопределения лейцина, валина и изолейцина оставляют желать много лучшего в смысле точности и простоты, они все же впервые дали возможность определять эти аминокислоты в малых количествах белков.

Чтобы снизить большие ошибки этих определений, главным образом для лейцина и валина, мы в нашей практике обычно проводим пять параллельных микродестилляций с неизвестным веществом и пять — на известной смеси валина и лейцина. Состав этой последней смеси должен быть близок к составу испытуемой смеси (определения на известной смеси служат для проверки формулы расчета). Таким образом, на неизвестном веществе проводится от 10 до 20 окислений с бихроматом и столько же с перманганатом калия. Выходы кетонов определяют и рассчитывают с учетом удвоенной средней ошибки (см. гл. I).

Очевидно, с увеличением разницы в выходе ацетона из лейцина по обоим методам окисления точность определения увеличивается, если одновременно не изменяется выход ацетона из валина. Метод продувания дает приблизительно 50% выхода ацетона от теории для валина и 6% для лейцина при хроматном окислении и 50% выхода для валина и 36% для лейцина при

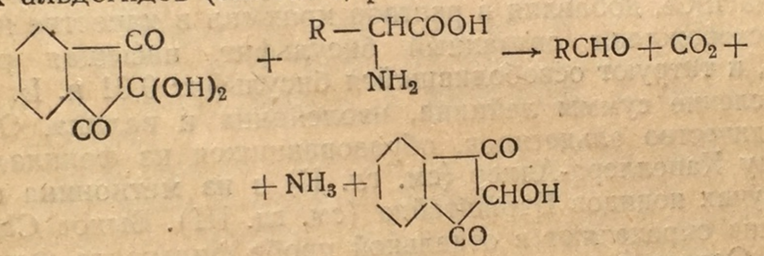
перманганатном окислении. Изолейцин дает примерно 50% от ожидаемого количества при окислении обоими окислителями.

При микродестилляции получаются выходы в 50% для валина и 9,4% для лейцина при хроматном окислении и 64% для валина и 36% для лейцина при действии $KMnO_4$. Из изолейцина в первом случае выход метилэтилкетона достигает 60%, а во втором — 70%.

Точность метода определения лейцина и валина могла бы значительно возрасти, если эти две аминокислоты удалось бы разделить перед окислением одним из приемов, описанных в этой главе.

6. ОКИСЛЕНИЕ НИНГИДРИНОМ

Принцип метода. При нагревании с разбавленным кислым раствором нингидрина (трикетогидринденгидрата) лейцин, изолейцин и валин количественно окисляются до соответствующих низших альдегидов (см. гл. I, раздел 4, подраздел 1).



А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА В ЧИСТОМ РАСТВОРЕ (ВИРТАНЕН И ЛЭН [397] И [662])

Метод определения. 0,2—0,5 *мг* лейцина в 10 *мл* раствора кипятят в течение 15 мин. с 7,5 *г* сульфата аммония, 0,5 *г* лимонной кислоты и 4 *мл* 1% водного раствора нингидрина. Дестиллят улавливают в 5 *мл* 1% раствора $NaHSO_3$. После окисления изовалеральдегид количественно переводят в раствор бисульфита перегонкой с паром в течение 30 мин. Связанный бисульфит определяют обычным способом.

Примечание. Лэн утверждает, что в отсутствие других аминокислот, дающих летучие альдегиды, можно определить лейцин по этому методу с ошибкой менее чем 5%.

Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММЫ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА (ВИРТАНЕН, ЛЭН И ТОЙВОНЕН [663])

Основы метода. При обработке аминокислот белкового гидролизата нингидрином летучие альдегиды образуются из валина, лейцина, изолейцина, аланина, фанилаланина и метионина. Для определения последних трех аминокислот существуют отдельные методы (см. гл. II, III и VII); следовательно, можно определить сумму аминокислот группы «лейцина».

Метод. а) Гидролиз и удаление дикарбоновых аминокислот. Гидролизуют 1 *г* белка с 10 *мл* крепкой HCl в течение

6 час., удаляют избыток HCl упариванием и разводят остаток до 10 *мл* водой. Добавляют 5 *мл* известкового молока (раствор должен быть сильно щелочным) и затем 100 *мл* 96% этилового спирта при сильном размешивании. Осадок дикарбоновых аминокислот отбрасывают. Из фильтрата удаляют спирт.

б) Определение суммы валина, лейцина и изолейцина. Разбавляют определенный объем полученного выше фильтрата Формана (0,05 до 0,5 *мг* N) до 10 *мл* водой и вносят 1 *г* KH_2PO_4, 1,5 *г* NaCl и 2 *мл* 1% раствора нингидрина. Отгоняют альдегиды в поглотительную трубку для газов, опущенную в охладительную смесь и содержащую 3 *мл* 1% $NaHSO_3$. В начале реакции нагревают реакционную колбу на малом огне 15 мин., а затем отгоняют альдегиды с паром в течение 30 мин. так, чтобы в приемнике собралось всего 30 *мл* жидкости.

в) Титрование суммы летучих альдегидов. Оттитровывают избыток $NaHSO_3$ с 0,1 н. I_2, точно разрушают избыток иода 0,01 н. $NaHSO_3$, добавляя в раствор крахмал в качестве индикатора. Освобождают связанный бисульфит, насыщая раствор $NaHCO_3$, и титруют освободившийся бисульфит 0,01 н. I_2.

Вычисление суммы лейцина, изолейцина и валина. Определяют количество альдегидов, образовавшихся из фенилаланина по методу Капеллера-Адлер (см. гл. II) и из метионина по методу летучих иодидов Барнштейна (см. гл. III). Выход CH_3CHO из аланина определяют в отдельной пробе фильтрата Формана (гл. VII). Остаточное количество альдегидов дает сумму лейцина, изолейцина и валина.

Примечание. Этот общий прием может быть полезен в комбинации со специфическими методами разделения лейцина, валина и изолейцина.

Нейбергер и Сенджер [474] считают, что не обязательно отделять аспарагиновую кислоту, так как из нее, вопреки мнению Виртанен, Лэн и Тойвонен [663], не образуется ацетальдегида при нагревании с нингидрином.

В. МИКРООПРЕДЕЛЕНИЕ ВАЛИНА (РЕТЛИНД [692])

Основы метода: Валин окисляют нингидрином в изобутилальдегид, отгоняют альдегид с паром в воду и определяют колориметрически при помощи реакции Фабини [216].

Метод. а) Окисление. Кипятят в течение 5 мин. при 120° от 20 до 250 γ валина в 10 *мл* воды со 100 *мг* KH_2PO_4, 150 *мг* NaCl и 6-кратным против теории количеством нингидрина. Образовавшийся альдегид отгоняют с паром в течение 10—15 мин. и доводят отгон до 10 *мл*.

б) Образование окраски. На 3 *мл* альдегидного раствора добавляют 2 *мл* точно 10,5 н. HCl и 1 *мл* 20% по объему раствора салицилового альдегида. Смесь помещают в водяную баню при

50° на 70 мин. Затем охлаждают пробирки в течение 10 мин. и определяют окраску.

Примечание. В статье Ретлинда не указано, получается ли окраска по реакции Фабини также и с летучими альдегидами, образовавшимися из лейцина, изолейцина и др. Если эти альдегиды не дают окраски, метод может оказаться очень ценным.

7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА

(Лайман и др. [433В]; Куикен, Норман, Лайман, Гэл и Блоттер, в печати; см. гл. IX, ч. II, раздел Д)

Основы метода. Возможность выращивать некоторые микроорганизмы на синтетических средах позволила разработать методы для количественного определения каждого незаменимого компонента этой среды.

Метод. Куикен К. Л., Норман В. Г., Лайман К. М., Гэл Ф. и Блоттер Л., Микробиологическое определение аминокислот, I. Валин, лейцин и изолейцин, J. Biol. Chem., 151, 615—626, 1943 г.

Состав полной питательной среды для Lactobacillus arabinosus приводится ниже (коллекция американских типов культур, Медицинская школа университета в Джорджтоуне, Вашингтон). Среды для определения валина, лейцина или изолейцина готовят без добавления соответствующей аминокислоты.

Доводят реакцию среды до pH 6,5—6,8 и разбавляют водой до 1 *л*.

Тирозин растворяют в 0,1 н. NaOH, цистин в 0,1 н. HCl; все другие аминокислоты растворяются в воде и доводят до нейтральной реакции по водному раствору фенолкрасного.

Элюат томатного сока. Большую кружку томатного сока (1350 *мл*), разбавляют равным объемом дестиллированной воды и центрифугируют. Осветляют полученный раствор добавкой 120 *г* фильтерцела и отсасывают на воронке. Прозрачный фильтрат доводят до pH 3 серной кислотой. Затем добавляют 40 *г* норита А и механически взбалтывают в течение 30 мин. Активное вещество адсорбируется на норите А, который собирают, фильтруя через тонкий слой фильтерцела. Осадок норита суспендируют в 250 *мг* 50% этанола и опять собирают, фильтруя через тот же слой. Затем элюируют активное вещество из норита следующим образом. Осадок норита вместе с фильтрующим слоем суспендируют в 200 *мл* смеси пиридин — этанол — вода (1 : 2 : 1 по объему), нагревают приблизительно до 60° и встряхивают 15 мин. Собирают элюат, фильтруя его через фильтерцел, и еще дважды обрабатывают норит такой же смесью. Все фильтраты собирают вместе и выпаривают в вакууме досуха. После

добавки небольшого количества воды нейтрализуют раствор NaOH для облегчения улетучивания пиридина и продолжают вакуум-отгонку до полного удаления пиридина.

Дальнейшая очистка активного вещества производится путем гидролиза серной кислотой для разрушения белковых примесей и путем повторной адсорбции и элюации. Вещество кипятят 24 часа в 40 *мл* 8 н. H_2SO_4 с обратным холодильником. Затем добавляют горячий насыщенный раствор гидрата окиси бария до щелочной реакции по красному конго и кислой по лакмусу. Осадок $BaSO_4$ отделяют и два раза промывают горячей водой. Гидролизат и промывные воды смешивают и реакцию доводят до pH 3. Если в это время образуется осадок, его удаляют центрифугированием. Адсорбция и элюация проводится затем так же, как было описано в начале, употребляя 8 *г* норита и 100 *мл* раствора для элюирования. После удаления смеси пиридин — этанол — вода путем отгонки в вакууме из остатка приготовляют водный раствор с содержанием 5 *мг* твердых веществ в 1 *мл*. Во время элюирования часть норита может перейти в коллоидное состояние, что очень затрудняет фильтрование. В этом случае помогает добавка небольшого количества свежего норита.

Состав полной питательной среды для Lactobacillus arabinosus

Глюкоза	40 *г*	*l* (—)-аргинин гидрохлорид	400 *мг*
Ацетат натрия (безв.)	14,5 *мг*	*dl*-аланин	400 *мг*
Аденин сульфат	10 *мг*	*dl*-аспарагиновая кислота	800 *мг*
Гуанин гидрохлорид	10 *мг*	*dl*-глютаминовая кислота моногидрат	800 *мг*
Урацил	10 *мг*	*l* (—) гистидин моногидрохлорид	400 *мг*
Тиамин хлорид	200 γ	*l* (—) лизин гидрохлорид	400 *мг*
Пиридоксин гидрохлорид	200 γ	*dl*-фенилаланин	400 *мг*
Пантотенат кальция	200 γ	*l* (—)-пролин	400 *мг*
Биотин	0,8 γ	*dl*-серин	400 *мг*
Рибофлавин	400 γ	*l* (—)-триптофан	400 *мг*
Никотиновая кислота	800 γ	*dl*-метионин	400 *мг*
n-Аминобензойн. к-та	1,0 γ	*dl*-треонин	400 *мг*
Элюат из томатов	200 *мг*	*dl*-тирозин	400 *мг*
K_2HPO_4	1 *г*	*dl*-валин	400 *мг*
KH_2PO_4	1 *г*	*dl*-лейцин	400 *мг*
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	400 *мг*	*dl*-изолейцин	400 *мг*
NaCl	20 *мг*	*l* (—)-цистин	400 *мг*
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	20 *мг*		
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	20 *мг*		

Постановка опытов. Культуры Lactobacillus разводят на твердых средах, содержащих 0,8% агара, 1% пептонизированного молока, 1% триптона и 200 *мл* фильтрованного томатного сока на 1 *л*. Культуры пересеиваются ежемесячно и выдерживаются 24 часа при 35°; после этого свежая культура хранится в холодильнике. Для опытов культуры выращивают на средах без агара; после 24 час. роста клетки асептически отцентрифуговывают; промывают один раз 0,9% раствором NaCl и суспендируют в солевом растворе. Для каждой пробирки в опыте берется по 1 капле сильно разбавленной солевой суспензии.

В серию пробирок вводится точное постепенно снижающееся количество аминокислоты в растворе; ставятся параллельно по два опыта. Ряд стандартов охватывает от 0,0 до 0,1 *мг* *dl*-валина, *dl*-лейцина и *dl*-изолейцина. Последовательные пробирки не должны отличаться друг от друга более чем на 0,02 *мг*. Для определений берут нейтрализованный белковый гидролизат (pH 6,5—6,8) не менее как в трех концентрациях. Затем во все пробирки добавляют по 5 *мл* соответствующей опыту питательной среды и воды до конечного объема в 10 *мл*. Содержимое пробирок смешивают, затыкают ватными пробками и стерилизуют в течение 15 мин. в автоклаве. После стерилизации пробирки охлаждают, вводят в них культуру и ставят в термостат при 35°. Через 72 часа содержимое пробирок центрифугируют и титруют пробы (5 *мл*) 0,1 н. NaOH по бромтимолсинему в качестве индикатора (добавлять в раствор). Содержание искомой аминокислоты вычисляют на основании количеств молочной кислоты, образовавшихся в опытных и в стандартных растворах.

Примечание. Белок должен быть полностью гидролизован. Однако если в процессе гидролиза произойдет частичная рацемизация аминокислоты, то получатся заниженные аналитические данные, так как Lactobacillus arabinosus может использовать только естественные формы незаменимых аминокислот.

Раздел 3

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА В РАЗЛИЧНЫХ БЕЛКАХ

Как и в предыдущих главах, все цифры, приведенные в таблицах, рассчитаны на содержание азота в 16%. Во многих случаях, особенно при применении метода перегонки эфиров Фишера, литературные данные для лейцина включают также изолейцин. Эти случаи отмечены в таблицах (см. Абдергальден и Вейль [18]).

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА В БЕЛКАХ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Вычислено на содержание 16% азота

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Альбуминоиды:							
Желатина	Фромажо-Блок	Не опубликовано	16,6	3,7 ± 0,5	1,1 ± 0,2	2,1 ± 1,0 макро	
Желатина	Дэкин	Дэкин — 185	18,0	6,8	0,0	0,0	
Желатина	Фишер	Фишер — 222	(16,0)	2,1		1	а
Желатина	Фишер	Коссель — 383	(16,0)			+	
Желатина	Бергман	Штейн — 588A	(18,3)	3,0			
Желатина	Хроматогр.	Гордон — 261B		5,9		2,3	а
Рыбья желатина	Фромажо-Блок	Не опубликовано	11,8	2,3 ± 1,9	1,1 ± 0,1	3,4 ± 0,5	
Эластин	Эрлих-Бразье	Штейн — 586	17,1	28,1		12,6	а
Коллаген	Бергман	Штейн — 588A	(18,6)	3,6			
Желатина	Лайман	Лайман — 433B	(16,0)	3,3	1,7	2,5	
Белок в животном:							
Крыса	Изотопн.	Шонгеймер — 567		10,8			
Кровь:							
Гемоглобин лошади	Фромажо-Блок	Не опубликовано	16,7	16,8 ± 3,0	1,4 + 0,2	6,5 ± 0,7 макро	
Гемоглобин лошади	Фромажо-Блок	Не опубликовано	16,7	16,6 ± 2,4	1,6 + 0,3	9,1 ± 1,1	

[а] Лейцин и изолейцин.

Продолжение

[а] Лейцин и изолейцин.

Продолжение

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Гемоглоб разн.	Фромажо	Рош — 552	(16,7)	16,4 ± 1,6		8,9 ± 1,2	
Гемоглобин	Изотопн.	Уссинг — 626	(16,7)	16,3			
Глобин челов.	Фромажо	Фромажо — 247	14,9	17,2		9,8	
Фибрин рог. скота	Фромажо-Блок	Не опубликовано	13,4	14,3 ± 3,9	5,0 ± 0,5	3,9 ± 1,8 макро	
Сыворот. белки	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,0	18	2,7 ± 0,2	6	
Бенс-Джонс	Фишер	Абдергальден — 11	(16,0)	11			
Бенс-Джонс	Фишер	Гопкинс — 308	16,2	5,4	1	5,5	
Мозг:							
Животных	Фромажо-Блок	Не опубликовано	14,2	13,4 ± 2,2	3,6 ± 0,3	4,9 ± 0,7	
Белки яйца:							
Яйцо в целом	Фромажо-Блок	Не опубликовано	14,0	19,0 ± 2,1	5,3 + 0,3	4,4 + 0,6	
Альбумин	Фишер	Осборн — 497	15,5	11,1		<3	а
Альбумин	Нингидрин	Виртанен — 663	12,1		24		аб
Альбумин	Бергман	Штейн — 588 А	(15,5)	9,4			
Вителлин	Фишер	Абдергальден — 13	(16,0)	11		<3	а
Вителлин	Фишер	Осборн — 495	(16,3)	10		2	а
Ливитин	Эрлих-Бразье	Джюкс — 348	15,5	11		10	б

[а] Лейцин и изолейцин.
[б] Изолейцин и валин.
[аб] Лейцин, изолейцин и валин.

Продолжение

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Подскорлупная перепонка	Фишер	Абдергальден — 14	16,0	< 8		> 1	a
Альбумин	Лайман	Мак-Маган — 499А				6,8	
Пищевые продукты и корма:							
Сельдь менхеден	Фромажо-Блок	Не опубликовано	11,6	10	4,0 ± 2,2	4	
Отходы салотоп. производства	Фромажо-Блок	Не опубликовано	10,6	13	2,5 ± 0,2	6	
Снятое молоко	Фромажо-Блок	Не опубликовано		13	5	5	
Кератины:							
Шерсть	Фишер	Абдергальден — 16	(16,6)	11		3	
Шерсть	Мартин	Мартин — 437		10,8		4,6	a
Шерсть	Хроматогр.	Мартин — 439		11,1			
Шерсть	Хроматогр.	Гордон — 261В		9,3		5,2	a
Волос лошад.	Фишер	Абдергальден — 9	(16,0)	7,1		1	a
Волос кролич.	Фромажо-Блок	Не опубликовано		7,1 ± 2,0		2,7 ± 0,7	
Щетина	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,1	9,5 ± 1,0	3,6	6,3 ± 0,6	
Рог рог. скота	Фишер	Абдергальден — 16	(15,1)	> 16		< 5	
Рог	Фишер	Фишер — 224	(15,1)	19,2		6	
Копыто рог. скота	Фромажо-Блок	Не опубликовано	14,8	15,4 ± 1,6	4,4	5,0 ± 0,5	

[a] Лейцин и изолейцин.

а Лейцин и изолейцин.

Продолжение

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Перья гусин.	Фишер	Абдергальден — 10	(16,0)	8	—	1	а
Спонгин	Фишер	Абдергальден — 12	(16,0)	8			
Фиброин шелка	Фишер	Абдергальден — 20	(19,0)	2,1			
Фиброин шелка	Бергман	Штейн — 588А	(19,0)	0,8			
Фиброин шелка	Лайман	Мак-Маган — 449А	(19,0)	—	—	2,7	
Акула	Фишер	Прегль — 525	15,1	6,1	—		а
Белки, содержащие металл:							
Глобин мышечн.	Фромажо	Рош — 552	(16,0)			4 до 5	
Гемоцианин	Фромажо	Рош — 552	(16,0)	10,2 ± 2,4		5,8 ± 1,3	
Белки молока:							
Казеин	Фишер	Фореман — 240	15,6	10,0		8,1	а
Казеин	Фромажо	Фромажо — 247	15,0	12,1		7,0	
Казеин	Фишер	Левин — 415	(15,4)	9	2	7	
Казеин	Фишер	Левин — 416	(15,4)	7,2	1,5	7,0	
Казеин	Фишер	Осборн — 502	15,5			7,5	
Казеин	Дэкин	Плиммер — 523	14,1	13,6			
Казеин	Нингидрин	Виртанен — 663	13,5		22		аб
Казеин	Лайман	Лайман — 433В	(15,0)	9,9	6,5	6,7	

а Лейцин и изолейцин.
аб Лейцин, изолейцин и валин.

Продолжение

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Лактальбумин	Фишер	Джонс — 340	15,4	15		4	a
β-лактоглобулин	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,4	17,7 ± 4,2	6,6 ± 0,6	7,9 ± 1,4	
Молоко коровье	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,2	12,2 ± 3,1	4,5 ± 0,4	4,5 ± 0,4	
Молоко женское	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,2	12,1 ± 3,9	5,2 ± 0,3	5,5 ± 1,5	
Разные:							
Хрусталик	Фишер	Хиджиката — 298	(16,0)	7		1	a
Протамин	Эрлих-Бразье	Хироката — 299				6,5	
Мышцы:							
Треска	Фишер	Абдергальден — 24	13,6	9	2	<5	
Рыба	Фишер	Осборн — 493	(16,0)	10,3		1	a
Гребенник	Фишер	Осборн — 496	17,1	8			a
Животные:	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,4	12,1 ± 1,1	3,4 ± 0,2	4—6	
Бык	Фишер	Осборн — 498	11,7			<1	a
Миозин кролика	Фишер	Шарп — 575		10,6		3	a
Ткани:							
Железы	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,1	11,8 ± 0,2	3,4 ± 0,2	4,0 ± 0,6	

[a] Лейцин и изолейцин.

СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙЦИНА, ИЗОЛЕЙЦИНА И ВАЛИНА В РАСТИТЕЛЬНЫХ БЕЛКАХ

(Вычислено на содержание 16,0% азота)

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Белки кукурузы:							
Целое зерно	Фромажо-Блок	Не опубликовано	12,7	21,5 ± 2,4	3,6 ± 0,3	4,6 ± 0,7	
Зародыш	Фромажо-Блок	Не опубликовано	11,8	16,3 ± 3,1	3,7 ± 0,4	5,8 ± 1,2	
Глутин	Фромажо-Блок	Не опубликовано	12,7	24,7 ± 3,7	4,9 ± 0,3	4,6 ± 1,4	
Отруби	Фромажо-Блок	Не опубликовано	—	10,3 ± 3,4	3,7 ± 0,4	4,8 ± 2,3	
Отходы при выделении зеина	Фромажо-Блок	Не опубликовано	10,9	11,0 ± 2,9	2,0 ± 0,3	5,5 ± 1,0	
Зеин	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,3	22,0 ± 1,4	4,2 ± 0,4	1,7 ± 0,5	
Зеин	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,3	25,5 ± 2,5	4,3 ± 0,3	2,8 ± 0,9	
Зеин	Фромажо-Блок	Не опубликовано	15,3	23,6 ± 2,4	—	2,7 ± 1,3	
Зеин	Эрлих-Бразье	Бразье — 129	17,5	24,6		9,2	а
Зеин	Дэкин	Дэкин — 189	16,1	25	0	0	б
Зеин	Дэкин	Дэкин — 189	16,0	—	—	1	
Зеин	Фишер	Осборн — 490	16,1	18,2	—	<1	а
Зеин	Фишер	Осборн — 499	16,1	19,6	—	1,9	а
Зеин	Фишер	Осборн — 500	16,1	18,8	—	—	а
Зеин	Нингидрин	Виртанен — 663	14,5		26		аб
Альбумины	Фромажо-Блок	Не опубликовано	11,5	11,3 ± 4,1	1,3 ± 0,4	2,5 ± 1,1	
Глутинов. мука	Фромажо-Блок	Не опубликовано	—	19,6 + 3,8	3,7 ± 0,3	1,5 ± 0,7	

[а] Лейцин и изолейцин.
[б] Изолейцин и валин.
[аб] Лейцин, изолейцин и валин.

Продолжение

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Белки листьев:							
Люцерна	Фромажо-Блок	Не опубликовано	10,6	11	5,4 ± 0,2	6	
Разное:							
Хлеб	Фромажо-Блок	Не опубликовано	11,3	11,2 ± 1,6	2,8 ± 0,3	3,1 ± 0,5	
Глобулины хлопк. семян	Фромажо-Блок	Фонтэн — 238	16,7	8,1	2,1	5,8	
Глобулины хлопк. семян	Фромажо-Блок	Фонтэн — 238	16,9	8,5	2,3	5,8	
Глобулины хлопк. семян	Фромажо-Блок	Фонтэн — 238	17,9	7,5	2,2	6,7	
Мука хлопк. семян	Лайман	Лайман — 433В	6,8	5,0	3,4	3,7	
Глобулин хлопк. семян	Фишер	Джонс — 339	18,5	6	—	4	а
Эдестин	Фромажо	Фромажо — 247	18,0	6,6		5,1	
Эдестин	Фишер	Левин — 416	(18,6)	7	—	5	а
Мука льняного семени	Фромажо-Блок	Не опубликовано		< 5	1,5 ± 0,2	7,5 ± 0,6	
Грамицидин	Бергман	Готчкинс — 310	14,8	24,0			
Грамицидин	Хроматогр.	Гордон — 261		30,3	—	22,2	
Гордеин	Фишер	Кляйншмитт — 369	17,2	7		2	а
Кафирин	Фишер	Джонс — 339	16,4	15	—	4	а
Легумелин	Фишер	Осборн — 492	18,0	9		1	а
Мука лупиновая	—	Гейнрих — 286	?	9		2	а
Мука льняного семени	Фромажо-Блок	Не опубликовано		7,5 ± 2,8	3,4 ± 0,3	5,8 ± 1,3	

[a] Лейцин и изолейцин.

Окончание

Происхождение	Метод	Ссылка	Азот, %	Лейцин, %	Изолейцин, %	Валин, %	
Плесень	Эрлих-Бразье	Уллей —689	5,15	4,3	0,7	0,2	
Рицин	Фишер	Каррер —355	(17,0)	15	—	2	a
Мука соевых бобов	Фромажо-Блок	Не опубликовано		7,7 ± 0,8	4,0 ± 4	4,5 ± 0,4	
Мука соевых бобов		Гейнрих —286		9	—	2	a
Мука соевых бобов	Лайман	Лайман —433В	7	6,6	4,7	4,2	
Вирус	Эрлих-Бергман	Росс —557	15,9	7,1	—	4,6	
Тироцидин	Хроматограф.	Гордон —261		11—13	—	8,7—10,7	
Белки земл. ореха:							
Мука	Фромажо-Блок	Не опубликовано	10,4	7,6 ± 2,4	2,7 ± 0,3	7,5 ± 0,7	
Мука	Лайман	Лайман —433В	7,2	5,5	3,4	4,0	
Арахин	Фишер	Джонс —322	18,3	< 4	—	1	
Белки пшеницы:							
Целое зерно	Лайман	Лайман —433В	2,3	5,8	3,3	3,6	
Зародыш	Фромажо-Блок	Не опубликовано		7,4 ± 2,3	3,0 ± 0,5	4,1 ± 1,0	
Хлопья	Фромажо-Блок	Не опубликовано	12,6	12,0 ± 2,6	3,7 ± 0,2	3,4 ± 0,5	
Глиадин	Фишер	Осборн —489	17,7	5		< 1	a
Глиадин	Фишер	Осборн —503	17,7	6	—	3	a
Глутенин	Фишер	Осборн —489	17,5	6	—	< 1	a
Глутин	—	Падоа —508	?	9	—	> 3	a
Белки дрожжей	Фромажо-Блок	Не опубликовано		10	4,2 ± 0,2	4,2 ± 0,8	
Смешанные	Фромажо-Блок	Не опубликовано		13,2 ± 2,6	3,4 ± 0,2	4,4 ± 0,8	
Пивные	Микробиолог.	Не опубликовано		7,3	6,0	5,3	

[a] Лейцин и изолейцин.

Несмотря на очевидные трудности окислительного метода Фромажо для определения лейцина и валина, данные, полученные по этому методу различными авторами, хорошо согласуются с данными более точного метода изотопного разведения (ср. анализы гемоглобина). Автору этого труда кажется, что окислительный метод определения валина, лейцина и изолейцина, дающий возможность работать на количествах белка порядка 100 *мг*, более точен и во много раз проще единственного другого хорошо описанного способа, именно — метода Фишера. Можно также рекомендовать микробиологический метод Лаймана и др. [433В], а также хроматографический метод Гордона, Мартина и Сайндж ([261] и т. д.).

Цифры, полученные по методу Фромажо и приведенные в таблице со знаком $\pm$, вычислены из 6 или более параллельных определений с введением удвоенной средней ошибки $P = 0{,}05$ (ср. гл. I). Эти цифры считаются более точными, чем те, которые приведены без указания ошибки.

Глава VI

ДИКАРБОНОВЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ:

АСПАРАГИНОВАЯ И ГЛЮТАМИНОВАЯ КИСЛОТЫ

	Аспарагиновая кислота	Глютаминовая кислота
Эмпирическая формула . . .	$C_4H_7O_4N$	$C_5H_9O_4N$
Оптическая форма	*l*	*d*
Точка плавления	251°	197—198°
Мол. вес	133,07	147,08
Углерод	36,08	40,80
Водород	5,31	6,17
Азот	10,53	9,50
Кислород	48,11	43,51

Раздел 1

ГИДРОЛИЗ

Гидролиз. Авторы незнакомы с какими-либо опытами по выявлению потерь аспарагиновой и глютаминовой кислот во время гидролиза. Удуард, Рейнгарт и Доган [687] показали, что из белкового гидролизата можно выделить не более 50—70% присутствующей глютаминовой кислоты после удаления гуминов обработкой Cu_2Cl_2 или после извлечения моноаминомонокарбоновых кислот бутиловым спиртом. Колвери [139] пришел к выводу, что бутиловый спирт извлекает вместе с моноаминомонокарбоновыми кислотами также часть дикарбоновых кислот.

Можно рассчитывать, что после недавнего введения в практику быстрых микрометодов количественного определения глютаминовой кислоты в белковых гидролизатах (Коэн [167] и др.) вопрос о потерях ее при гидролизе будет выяснен.

β-Оксиглютаминовая кислота. Высокое содержание β-оксиглютаминовой кислоты в казеине и других белках молока [184] не было подтверждено Николе и Шинном, которые пользовались своим высоко специфичным периодатным методом. Гуллно и Моррис [271], однако, установили ее присутствие в казеине в очень малом количестве (0,33%). Наконец, Бейлей, Чибнэл, Рис и Вильямс [158] считают, что даже эти малые количества могут быть ошибочными.

Раздел 2

АСПАРАГИНОВАЯ И ГЛЮТАМИНОВАЯ КИСЛОТЫ

1. ВЫДЕЛЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ И ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТ

А. ПРЯМОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГЛАЗИВЕЦ И ГАБЕРМАН [300])

История вопроса. В 1873 г. Глазивец и Габерман показали, что гидрохлорид глютаминовой кислоты может быть непосредственно выделен при концентрировании казеинового гидролизата, который был приготовлен путем кипячения с 18—20% HCl, содержащей 19% $SnCl_2$ [22].

Примечание. Хотя этот общий метод применялся в течение многих лет, Осборн и Джонс [501] еще в 1910 г. отметили, что выделение глютаминовой кислоты в виде гидрохлорида зависит от еще не полностью выясненных условий и что получающиеся результаты могут быть случайными и не имеют серьезного значения.

Б. ПЕРЕГОНКА ЭФИРОВ (ФИШЕР [220])

Основы метода. Глютаминовую и аспарагиновую кислоты выделяли из высококипящей фракции эфиров и из неперегоняющегося остатка. Этот метод не будет описан здесь, так как он, очевидно, совершенно оставлен, с тех пор как Осборн и Джонс [501] нашли путем опытов на искусственных смесях, что обратно удается выделить только 40—50% взятой аспарагиновой кислоты. Несколько позднее Абдергальден и Вейль [18, 19] получили при помощи эфирного метода Фишера выходы глютаминовой кислоты в 75% и менее, а для аспарагиновой кислоты — 45—55%.

В 1911 г. Абдергальден и Вейль [18] писали, что для наилучшего определения аминокислот нужно производить опыты по выделению их на чистых смесях. Они также отметили, что метод определения какой-либо аминокислоты, дающий хорошие результаты на одном белке, не обязательно подойдет для исследования другого. Это положение верно и в настоящее время, но с ним редко считаются.

2. ОСАЖДЕНИЕ АСПАРАГИНАТА И ГЛЮТАМИНАТА КАЛЬЦИЯ ВОДНЫМ СПИРТОМ (РИТГАУЗЕН [649] И ФОРЕМАН [239])

История вопроса. В 1869 г. Ритгаузен [649] применил для выделения глютаминовой и аспарагиновой кислот метод Шееле, разработанный еще в 1793 г., осаждения спиртом органических кислот в виде их кальциевых солей. Затем способ Ритгаузена был забыт и лишь в 1914 г. вновь независимо от него открыт Фореманом. С тех пор метод осаждения кальциевых солей спиртом называется методом Форемана.

А. СПОСОБ РИТГАУЗЕНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ФОРЕМАНОМ [239]

Метод. а) Гидролиз. От 20 до 40 *г* белка гидролизуют в течение 48 час. с 3 объемами конц. HCl. Избыток кислоты удаляют упариванием в вакууме и остаток растворяют в 200—400 *мл* воды.

б) Осаждение кальциевых солей. В гидролизат добавляют значительный избыток $Ca(OH)_2$, имеющего консистенцию сливок. На 1 *г* белка нужно израсходовать по крайней мере 500 *мг* CaO. Избыток извести отделяют фильтрованием и осадок тщательно промывают водой. Фильтрат и промывные воды концентрируют в вакууме до содержания 1 *г* белка в 3,5—4,0 *мл* раствора, после чего медленно при размешивании приливают 96—97% этиловый спирт до прекращения образования осадка. Выпавшие кальциевые соли отфильтровывают и промывают спиртом [23].

в) Разложение кальциевых солей. Осадок растворяют в 200—400 *мл* воды и ион кальция удаляют очень небольшим избытком щавелевой кислоты. Если присутствуют хлориды, их осаждают Ag_2SO_4. После удаления этих реагентов добавляют избыток водного раствора фосфорно-24-вольфрамовой кислоты. Если образовался осадок, его отделяют; избыточную фосфорновольфрамовую кислоту из раствора удаляют при помощи теплого раствора $Ba(OH)_2$. Ион бария количественно удаляют серной кислотой.

г) Извлечение пирролидонкарбоновых кислот. Раствор аминокислот выпаривают досуха и экстрагируют остаток ледяной уксусной кислотой для растворения пирролидонкарбоновых кислот. Этот процесс можно контролировать, измеряя разницу в общем и аминном азоте.

д) Вычисление содержания аспарагиновой и глютаминовой кислот. После удаления уксусной кислоты можно рассчитать содержание аспарагиновой и глютаминовой кислот в остатке из следующего уравнения:

$$\frac{\%\,C - 40{,}80}{\%\,C - 36{,}08} = \frac{1}{R} \qquad \text{Аспарагиновая кислота} = \frac{1}{R} \times \text{вес смеси}$$

$$\text{Глютаминовая кислота} = \frac{R-1}{R} \times \text{вес смеси.}$$

е) Выделение аспарагината меди. Остаток после удаления пирролидонкарбоновых кислот растворяют в горячей воде и вносят избыток $CuCO_3$ в кипящий раствор. Выпадает аспарагинат меди.

ж) Выделение гидрохлорида глютаминовой кислоты. Из фильтрата от осаждения аспарагиновой кислоты удаляют медь сероводородом и добавляют HCl, после чего выпаривают до малого объема. Выкристаллизовывается гидрохлорид глютаминовой кислоты. Глютаминовая кислота = 0,80 × гидрохлорид глют-

аминовой кислоты. Аспарагиновая кислота = 0,673 × аспарагинат меди.

Примечание. Если аспарагиновой кислоты в смеси мало, то проще сперва осадить глютаминовую кислоту в виде хлоргидрата, а затем уже выделить аспарагинат меди.

Фореман [239] указал, что степень осаждения дикарбоновых кислот зависит от концентрации их в исходном водном растворе. Например, 1 *г* глютаминовой кислоты был выделен обратно из 20 *мл* раствора с выходом в 99%, а из 30 *мл* раствора — с выходом в 83%.

Цифры для глютаминовой кислоты должны быть исправлены с учетом образования пирролидонкарбоновой кислоты.

Б. СПОСОБ РИТГАУЗЕНА — ФОРЕМАНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ДЖОНСОМ И МЕЛЛЕРОМ [343]

Принцип метода. Для получения солей аминокислот вместо $Ca(OH)_2$ берется $Ba(OH)_2$, как это было предложено Дэкиным [185].

Метод. 1) Гидролизуют 50 *г* белка в 200 *мл* HCl в течение 30—36 час.

2) Удаляют HCl упариванием в вакууме.

3) Фильтруют для удаления гуминов.

4) Осаждают основания с фосфорно-24-вольфрамовой кислотой по Ван-Сляйку (гл. I).

5) Удаляют фосфорновольфрамовую кислоту из фильтрата амиловым спиртом и эфиром (см. гл. I).

6) Концентрируют раствор аминокислот до сиропа и растворяют его в 300 *мл* воды.

7) Добавляют избыток гидрата окиси бария до щелочной по лакмусу реакции. Отделяют осадок и промывают его.

8) Насыщают фильтрат раствором $Ba(OH)_2$.

9) Выливают щелочной раствор (600 *мл* по объему) в 5 объемов этилового спирта при размешивании. Оставляют стоять 48 час.

10) Промывают осадок спиртом.

11) Растворяют осадок в 350 *мл* воды и вновь осаждают бариевые соли 400 *мл* 95% спирта.

12) Отделяют осадок и промывают его, затем растворяют в воде и удаляют Ba^{++} при помощи H_2SO_4.

13) Упаривают раствор до малого объема и насыщают газообразным HCl при 0°. Выкристаллизовывается гидрохлорид глютаминовой кислоты.

14) Из фильтрата удаляют HCl действием Ag_2SO_4.

15) Удаляют реагенты и кипятят раствор, содержащий аспарагиновую кислоту с $CuCO_3$. Охлаждают в течение нескольких дней и отфильтровывают выпавший аспарагинат меди.

16) Упаривают фильтрат до малого объема для получения новой порции кристаллов аспарагината меди.

17) Удаляют медь из фильтрата и выделяют второй осадок гидрохлорида глютаминовой кислоты.

Примечание. Так как глютаминат меди не очень хорошо растворим в воде, надо следить за тем, чтобы эта соль не попала в качестве загрязнения во вторую порцию кристаллов аспарагината меди. Джюкс [348] упаривал раствор медных солей досуха и извлекал возможные примеси глютамината меди шестикратной экстракцией водой при комнатной температуре порциями по 100 *мл*.

Мюллер [452] избегал применения сульфата серебра для удаления HCl из фильтрата после осаждения хлоргидрата глютаминовой кислоты тем, что осаждал дикарбоновые кислоты при помощи $Ba(OH)_2$ и спирта, как при первоначальном отделении их.

Удаление HCl из фильтрата, получающегося от осаждения гидрохлорида глютаминовой кислоты, не является, однако, необходимой операцией.

В.* СПОСОБ РИТГАУЗЕНА — ФОРЕМАНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ЧИБНЭЛОМ [157]

Методика. *а*) Гидролиз и удаление аммиака. Кипятят 50 *г* белка с 300 *мл* HCl (1 : 1) в течение 20—24 час. Удаляют сколько можно соляной кислоты выпариванием в вакууме, растворяют осадок в воде и добавляют избыток известкового молока. Отфильтровывают и промывают осадок, а фильтрат концентрируют в вакууме для удаления аммиака.

б) Осаждение кальциевых солей. После упаривания фильтрата до объема в 400 *мл* реакция должна быть сильно щелочной по фенолфталеину. Приливают при размешивании 3420 *мл* абсолютного этилового спирта. Осадок отделяют тотчас и промывают абсолютным спиртом.

в) Переосаждение кальциевых солей. Промытый осадок растворяют в 300 *мл* воды и добавляют 10 *мл* известкового молока. Нерастворившуюся часть осадка отделяют и промывают, фильтрат доводят до объема 400 *мл* и вторично осаждают кальциевые соли 3420 *мл* абсолютного спирта.

г) Выделение глютаминовой кислоты. Осадок растворяют в 800 *мл* горячей воды; если останутся нерастворимые частицы, то их промывают малыми порциями горячей воды. Ионы кальция из раствора удаляют очень малым избытком щавелевой кислоты и промывают осадок. Фильтрат и промывные воды концентрируют до объема в 80 *мл*. Удаляют возможные остатки оксалата кальция, а также Ca^{++} и щавелевую кислоту. При-

* Наилучший метод выделения.

бавляют 20 *мл* концентрированной HCl и упаривают раствор до густого сиропа в вакууме. Добавляют еще крепкой соляной кислоты или газообразного HCl. Глютаминовая кислота выпадает в виде гидрохлорида после стояния на холоду в течение нескольких дней.

д) Очистка глютаминовой кислоты. Кристаллы гидрохлорида отфильтровывают через стеклянный фильтр, промывают их и перекристаллизовывают осадок, растворяя его в 20 *мл* кипящей воды с 5 *мл* крепкой HCl. Упаривают горячий раствор до начала кристаллизации. Отделяют кристаллы гидрохлорида глютаминовой кислоты, промывают их холодной соляной кислотой и сушат. Чистоту полученного соединения проверяют по его оптической активности в 9% HCl (+32°), по содержанию азота (7,64%) и титрованием соли в воде до pH 7,3 (по бромтимолсинему).

Глютаминовая кислота = 0,80 × гидрохлорид глютаминовой кислоты.

е) Аспарагинат меди. Соединяют все маточники и промывные воды после выделения глютаминовой кислоты и упаривают досуха для удаления избытка HCl. Растворяют остаток в кипящей воде и вносят избыток $CuCO_3$. Осадок основательно промывают горячей водой. Фильтрат и промывные воды концентрируют до малого объема и оставляют на несколько дней в холодильнике, после чего осадок аспарагината меди отделяют и промывают водой, спиртом и эфиром. Сушат медную соль до постоянного веса в вакуум-эксикаторе.

Аспарагиновая кислота = 0,673 × аспарагинат меди.

ж) Очистка аспарагината меди. Если нужно очистить аспарагинат меди, то его суспендируют в горячей воде и по каплям прибавляют HCl до полного растворения осадка. Затем прибавляют избыток $CuCO_3$ в горячий раствор, отфильтровывают лишний карбонат меди и тщательно промывают его горячей водой. Фильтрат и промывные воды концентрируют до начинающейся кристаллизации. Охлаждают раствор в течение нескольких дней и отделяют чистый аспарагинат меди, как было описано выше.

з) Выделение дальнейших количеств дикарбоновых кислот. Фильтрат после выделения аспарагината меди подкисляют HCl и удаляют медь сероводородом. Раствор упаривают до малого объема и осаждают дикарбоновые кислоты при помощи гидрата окиси кальция и спирта. Из этого осадка можно выделить, пользуясь вышеописанной методикой, еще небольшие количества глютаминовой и аспарагиновой кислот.

Примечание. Чибнэл, Рис, Вильямс и Бойлэнд [157] показали, что при «очистке» белковых гидролизатов с помощью Cu_2O или Cu_2Cl_2 происходят серьезные потери глютаминовой кислоты (см. обратное мнение ниже).

Чибнэл [158] пишет: «Истинное содержание глютаминовой кислоты в белке должно быть на 1—2%, а для аспарагиновой на 0,5—1% выше найденного» (по этому общему методу).

Метод Ритгаузена — Форемана, упрощенный Чибнэлом, дал в наших руках прекрасные результаты. Количество спирта для осаждения кальциевых солей может в некоторых случаях быть уменьшено. Мы нашли, что гидрохлорид глютаминовой кислоты можно легко отмыть ацетоном от темноокрашенного маточника. При этом получается бесцветное и обычно аналитически чистое соединение.

Проф. Кэйт Кэннан уведомил нас, что дикарбоновые аминокислоты могут быть количественно выделены из гидролизата, освобожденного от катионов по Блоку [107] с помощью синтетических анионных обменивателей. «Цеолит» сперва тщательно промывается водой для удаления некислых аминокислот, а потом дикарбоновые кислоты количественно выделяются из него крепкими щелочами или путем обмена с минеральными кислотами (см. Блок [107]). Ван-Сляйк и др. [636, 637] указали на возможность определить глютаминовую и аспарагиновую кислоты в смеси (но в отсутствие других аминокислот) на основании того, что при окислении нингидрином глютаминовая кислота образует 1 моль CO_2, а аспарагиновая — 1,9 моля.

Для облегчения выпадения чистого аспарагината меди Бэйлей, Чибнэл, Рис и Вильямс [158] перед осаждением кальциевых солей спиртом удаляют из раствора все продукты распада цистина и цистеина. Для этого, после удаления избытка минеральной кислоты повторным концентрированием в вакууме, солянокислый гидролизат нагревают до 45—50° и медленно приливают в него водную суспензию закиси меди (см. гл. III, разд. 2, подразд. 5) при сильном размешивании до тех пор, пока взятая проба не покажет наличия избытка Cu_2O и раствор не станет темносиним. Продолжают размешивание еще один час, а затем оставляют на ночь при 0°. Нерастворимый осадок отделяют и тщательно промывают ледяной водой.

Раздел 3

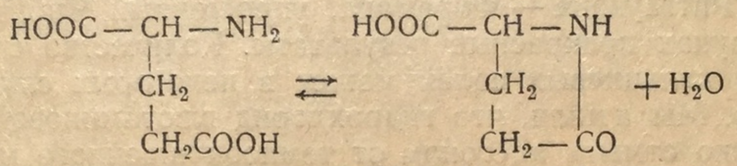
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПУТЕМ ПЕРЕВОДА ЕЕ В ПИРРОЛИДОНКАРБОНОВУЮ КИСЛОТУ

А. МЕТОД ОПСЭЛА И АРНОУ [486], ОСНОВАННЫЙ НА ОПЫТАХ ПУЧЕРА [534] И ВИЛЬСОНА [680]

Принцип метода. Вильсон и Кэннан [680] показали, что в водных растворах, близких к нейтральности, равновесие между глютаминовой и пирролидонкарбоновой кислотами смещено в сторону почти полной дегидратации. Обратно в сильно кис-

лых или щелочных растворах превращение пирролидонкарбоновой кислоты в глютаминовую происходит быстро и практически нацело.



Глютаминовая кислота Пирролидонкарбоновая кислота

Пучер и Викери [534] нашли, что пирролидонкарбоновая кислота может быть количественно выделена из разбавленного кислого раствора ($pH = 2,4 \pm 0,2$) длительной экстракцией этилацетатом.

Метод. 15 *г* казеина гидролизуют 20% HCl в течение 20 час. Кислоту удаляют концентрированием в вакууме и остаток растворяют в 60 *мл* воды. Раствор доводят до pH 3,3 при помощи 15 н. NaOH и дегидратируют глютаминовую кислоту кипячением раствора с обратным холодильником в течение 50 час. Раствор упаривают до 30 *мл* и в случае образования осадка фильтруют и промывают его холодной водой.

Затем доводят pH до 2,5 при помощи HCl и экстрагируют пирролидонкарбоновую кислоту этилацетатом в экстракторе непрерывного действия в течение 50 час. Отгоняют растворитель, остаток растворяют в 40 *мл* 9% HCl и 2 часа кипятят кислый раствор с обратным холодильником, чтобы превратить пирролидонкарбоновую кислоту в глютаминовую.

Из упаренного до 20 *мл* раствора осаждают глютаминовую кислоту в виде гидрохлорида, насыщая раствор газообразным HCl.

Примечание. Результаты Опсэла и Арноу [486] и Удуарда и Рейнгарта [688] показывают, что в некоторых случаях описанный прием может быть полезным.

Удуард и Рейнгарт [688] облегчают экстракцию пирролидонкарбоновой кислоты из воды при помощи этилацетата прибавлением в водный слой 10—20% Na_2SO_4 (высаливанием).

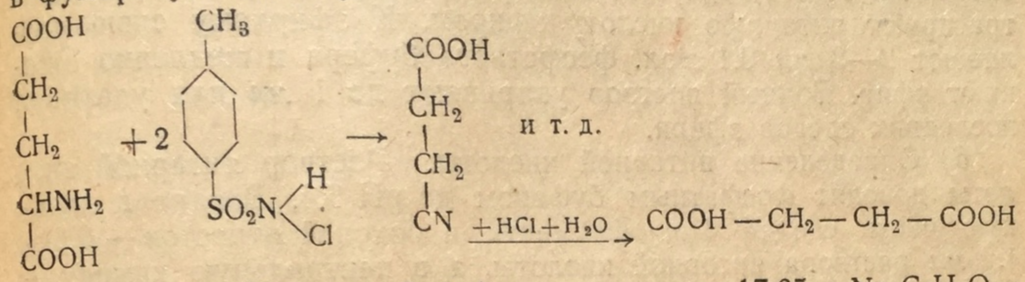
2. ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЯНТАРНУЮ (АРИМО [34] И КОЭН [167])

* А. МИКРООКИСЛЕНИЕ ПО КОЭНУ И КРЕБСУ [167, 390]

Основы метода. При окислении хлорамином Т глютаминовая кислота переходит в β-цианпропионовую; последняя при гидролизе дает янтарную кислоту. Для определения янтарной кислоты по манометрическому методу Кребса измеряют объем кис-

* Рекомендуемый метод.

лорода, поглощенный при окислении ее сукциндегидрогеназой в фумаровую кислоту.



Реактивы. Цитратный буфер: растворяют 17,65 *г* $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ и 8,40 *г* $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ в воде и доводят объем до 50 *мл.*

0,1 мол. фосфатный буфер (pH = 7,4): растворяют 17,8 *г* $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ в 500 *мл* воды, добавляют 20 *мл* 1 н. HCl и разводят до 1 *л.*

Хлорамин Т: ежедневно приготовляют свежий 10% раствор.

Сукциноксидаза. Промывают 50 *г* измельченных мышц голубя 3 раза порциями воды по 500 *мл* каждая, фильтруя через тонкую материю (муслин). Остаток отжимают от воды как можно тщательнее и суспендируют в 4—5 объемах фосфатного буфера. Фермент до экстракции его фосфатом сохраняется на холоду в течение 7—10 дней.

Аппаратура. Применяют стандартный прибор Варбурга с коническими сосудами, снабженными боковыми отростками и центральной камерой. В боковые отростки должно входить 1—1,5 *мл.*

Метод. а) Окисление. Устанавливают pH в определенном объеме белкового гидролизата на 4,7 при помощи 1—1,5 *мл* цитратного буфера и окисляют глютаминовую кислоту 2 *мл* хлорамина Т в растворе, встряхивая в течение 10 мин. при 40°. Охлаждают раствор во льду и отфильтровывают *п*-толуолсульфамид. Осадок промывают ледяной водой.

б) Экстракция цианпропионовой кислоты. Подкисляют водный раствор 4 *мл* 10% H_2SO_4 и экстрагируют β-цианпропионовую кислоту эфиром в экстракторе непрерывного действия в течение 1—2 час. К эфирному слою добавляют 2,5 *мл* фосфатного буфера и отгоняют эфир. После охлаждения отделяют вновь выпавшие следы *п*-$CH_3C_6H_4SO_2NH_2$.

в) Гидролиз до янтарной кислоты. К водному раствору цианпропионовой кислоты добавляют крепкой HCl до концентрации минеральной кислоты в 12,5% и помещают раствор на 15 мин. в кипящую водяную баню. Охлаждают, прибавляют по каплям крепкого NaOH до разогревания раствора, после чего разрушают хлорамин Т при помощи 0,5 *мл* 5% раствора хлористого аммония. Прибавляют несколько капель фенолкрасного и NaOH до красной окраски раствора. Последние следы *п*-толуолсульфамида извлекают из щелочного раствора эфиром.

г) Экстракция янтарной кислоты. Подкисляют водный раствор 3 *мл* 10% H_2SO_4 (светложелтый по фенолкрасному) и экстрагируют янтарную кислоту эфиром. К эфирному слою приливают 2—3 *мл* 0,1 мол. фосфатного буфера и медленно отгоняют эфир. Водный раствор упаривают до 1 *мл* для удаления последних следов эфира.

д) Определение янтарной кислоты. Раствор янтарной кислоты доводят фосфатным буфером до pH 7,4. Вводят в главную часть сосуда 4 *мл* фермента, в боковой отросток — 0,5—1,2 *мл* раствора янтарной кислоты, а в центральную камеру — 0,2 *мл* 2 н. NaOH. Измеряют поглощенный кислород обычным способом и вычитают из него объем, связанный одним ферментом.

100 микролитров (0,1 *мл*) $O_2 \approx 1{,}05$ *мг* янтарной кислоты.

Примечание. При помощи этого газометрического метода были получены выходы 93—99% от теории (Кребс [390]); Удуард и Рейнгарт [688]). Боварник советует гидролизовать цианпропионовую кислоту 20% H_2SO_4 в течение 3—4 час. Вторичная экстракция эфиром может быть опущена без введения какой-либо ошибки.

Б. МЕТОД КОЭНА — КРЕБСА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ УДУАРДОМ, РЕЙНГАРТОМ И ДОЭНОМ [687]

Методика. 60 *мг* гидролизата белка в 3 *мл* раствора доводят крепким раствором NaOH до pH 4,7; при этом вводят в раствор индикатор бромкрезолзеленый. Затем приливают 1,5 *мл* 2 мол. цитратного буфера при pH 4,7 и 3 *мл* свежеприготовленного водного раствора хлорамина Т. Встряхивают раствор 10 мин. при 40° и охлаждают во льду в течение 15 мин. Осадок *п*-$CH_3C_6H_4SO_2NH_2$ отфильтровывают и промывают 4 *мл* ледяной воды. Доводят объем до 11,5 *мл*, прибавляют 6,4 *мл* крепкой HCl и гидролизуют β-цианпропионовую кислоту в янтарную нагреванием раствора до 100° в течение 15 мин.

Дальнейшее определение — по Коэну и Кребсу [167, 390].

Примечание. Для определения янтарной кислоты существует целый ряд микрометодов; метод Гэпферта [259], вероятно, проще, чем способ Пучера и Викери [535].

Микроопределение янтарной кислоты по Гэпферту [259]. Раствор органических кислот подкисляют по конговой бумажке серной кислотой и нагревают на водяной бане. В горячий раствор вводят 0,1 н. $KMnO_4$ до получения бурого осадка. Выпавшую MnO_2 удаляют с помощью Na_2SO_3 и раствор выпаривают досуха. Остаток растворяют в 15 *мл* воды, добавляют 2 *мл* крепкой H_2SO_4 и насыщают раствор K_2SO_4. Водный раствор смывают в экстрактор для жидкостей тремя порциями насыщенного раствора K_2SO_4 по 4, 3 и 3 *мл* каждая, после чего раствор

экстрагируют эфиром 4 часа и более. К эфирному экстракту добавляют 5 *мл* воды, отгоняют эфир и для удаления последних следов его кипятят водный раствор в течение 5 мин. Вводят одну каплю 0,3% водного раствора *м*-нитрофенола и 0,05 н. NaOH до желтой окраски раствора. После этого обесцвечивают раствор одной каплей 0,1 н. HNO_3 и добавляют рассчитанный избыток 0,02 мол. $AgNO_3$ и одну каплю 0,05 н. NH_4OH (для нейтрализации раствора). Дают осадку отстояться в течение двух часов в темноте, отделяют его через тигель Гуча или через стеклянный фильтр, тщательно промывают тремя порциями 1% NH_4NO_3. К фильтрату добавляют 2 капли дихлорфлуоресцеина (0,1% в 70% спирте) и 7—9 капель крахмала, не содержащего хлора. Избыток серебра оттитровывают 0,02 мол. KBr до исчезновения розовой окраски.

1 *мл* 0,02 мол. $AgNO_3 = 1{,}18$ *мг* янтарной кислоты.

в. МЕТОД ОКИСЛЕНИЯ АРИМО И ЛЭН [34]

Основы метода. Дезаминируют глютаминовую кислоту в оксиглутаровую. Последнюю окисляют с $KMnO_4$ в янтарную и определяют количественно.

Метод определения. а) Осаждение глютаминовой кислоты. Дикарбоновые кислоты отделяют от большинства прочих аминокислот при помощи метода осаждения кальциевых солей Ритгаузена — Форемана, употребляя для этого 1 *г* или менее гидролизованного белка.

б) Дезаминирование. Прибавляют 1 *мл* 2 н. серной кислоты и 2 *мл* 30% $NaNO_2$ в 5 *мл* растворенного осадка Форемана, освобожденного от кальция и содержащего 1—10 *мг* глютаминовой кислоты. Раствор встряхивают 10 мин. и разрушают избыток HNO_2 кипячением.

в) Окисление. Раствор охлаждают до комнатной температуры и оксикислоты окисляют избытком 1,5 н. $KMnO_4$. Через 1 час осадок отделяют и янтарную кислоту экстрагируют свежеперегнанным эфиром в экстракторе постоянного действия в течение 48 час.

г) Определение. Эфирный слой выпаривают досуха и растворяют остаток в этиловом спирте. Прибавляют избыток насыщенного спиртового раствора нитрата серебра и осадок сукцината серебра отделяют и промывают спиртом. Осадок растворяют в разбавленной HNO_3 и освобожденный нитрат серебра титруют 0,005 н. NH_4SCN с солью Мора в качестве индикатора.

1 *мл* 0,005 $NH_4SCN \approx 0{,}368$ *мг* глютаминовой кислоты.

Примечание. Если располагают 25—500 *мг* глютаминовой кислоты, то сукцинат серебра можно взвесить.

Глютаминовая кислота $= 0{,}443 \times$ сукцинат серебра.

Раздел 4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ ОКИСЛЕНИЕМ И БРОМИРОВАНИЕМ (АРИМО [33])

Основы метода. Аспарагиновая кислота, не содержащая примеси тирозина, подвергается действию брома и $KMnO_4$ по Пучеру и др. [532]. Образующееся соединение, дибромщавелевоуксусная кислота, определяется колориметрически.

$$\begin{array}{l} CHNH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + Br_2 + KMnO_4 \longrightarrow \begin{array}{l} COOH \\ | \\ COCBr_2COOH^{(?)} \end{array}$$

Реактивы. 1 мол. раствор KBr: 11,9 *г* соли на 100 *мл* воды.

Петролейный эфир, т. кип. 35—40°.

Динитрофенилгидразин: 5 *г* продажного динитрофенилгидразина растворяют в 200 *мл* конц. HCl и 800 *мл* воды. Раствор кипятят от 1 до 2 мин., взбалтывают и разбавляют до 1000 *мл*. Перед употреблением следует раствор профильтровать.

Перекись водорода H_2O_2, не содержащую галоидов, готовят, подкисляя слегка 50 *мл* 8% раствора Na_2O_2, разбавленной H_2SO_4.

Метод определения. а) Осаждение аспарагиновой кислоты. Аспарагиновую кислоту осаждают из белкового гидролизата по методу Ритгаузена — Формана.

б) Окисление. Определенный объем с содержанием 0,2 до 2,0 *мг* аспарагиновой кислоты разбавляют водой до 20 *мл*, вносят 3 *мл* H_2SO_4 (1 : 1) и слегка кипятят 8—10 мин. После охлаждения добавляют 1 *мл* насыщенного водного раствора брома. Реакция проходит при комнатной температуре за 5 мин. Раствор фильтруют и фильтр промывают водой. (Объем — 35 *мл*.) К фильтрату добавляют 2 *мл* 1 мол. KBr и 5 *мл* 1,5 н. $KMnO_4$ и выдерживают при 20—22° в течение 10 мин. Затем охлаждают до 5—10° и обесцвечивают 3% H_2O_2, добавляя ее по каплям.

в) Отделение от пентабромацетона. Экстрагируют петролейным эфиром для отделения $CBr_3COCHBr_2$, который мог образоваться из лимонной кислоты.

г) Образование окраски. Водный раствор разбавляют до 100 *мл* и переносят отсюда порцию в 25 *мл* в колбу Кьельдаля на 100 *мл*. Приливают 25 *мл* воды и 0,5 *мл* 1,5 н. $KMnO_4$. Раствор обесцвечивают 2 *мл* свежеприготовленного 4% Na_2S и отгоняют от 40 до 45 *мл* в приборе типа, описанного у Фолина и Райта [229]. Отгон улавливают в раствор, состоящий из 10 *мл* дифенилгидразина и 20 *мл* воды. Охлаждают дестиллят и филь-

труют через тигель Гуча; осадок промывают водой, растворяют в кипящем пиридине и разбавляют раствор водой до объема в 25 *мл*.

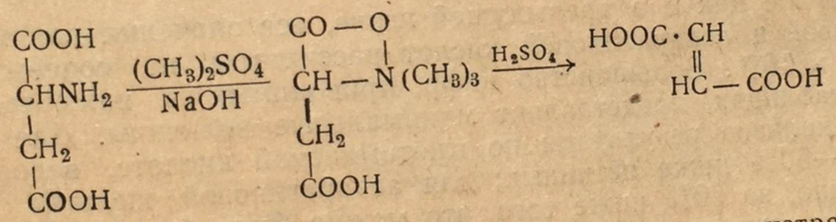
Добавляют по 50 *мл* воды и 5 *мл* 5 н. NaOH к порции в 2—5 *мл* пиридинового раствора и разводят до 100 *мл*. Полученные окрашенные растворы колориметрируют, употребляя фильтр 570 μ. В качестве стандарта берут аспарагиновую кислоту.

Примечание. На выход бромпроизводного влияют температура окисления $KMnO_4$ и количество примененного KBr.

Можно производить отделение аминомонокарбоновых кислот от дикарбоновых при помощи синтетических ионных обменивателей (см. Кэннан [148]).

2. ПРЕВРАЩЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ФУМАРОВУЮ (ДЭКИН [190])

Основы метода. Аспарагиновую кислоту превращают в фумаровую при помощи следующей реакции:



От аминокислот фумаровую кислоту отделяют экстракцией эфиром.

Метод. Определенный объем белкового гидролизата обрабатывают избытком диметилсульфата; реакцию раствора поддерживают щелочной в течение одного часа, добавляя время от времени немного 33% NaOH. Затем дают раствору постоять 2 часа, пока он не станет слабокислым. Тогда его еще подкисляют разбавленной H_2SO_4 и извлекают фумаровую кислоту эфиром. После отгонки эфира фумаровую кислоту взвешивают. Т. пл. 287 до 290° в запаянном капилляре.

Примечание. Интересно было бы дальнейшее развитие этого метода, основанного на способе Энгеланда [210].

3. РАЗЛИЧНЫЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Игрю [205] установил, что яблочная кислота, получающаяся при дезаминировании аспарагиновой, конденсируется с β-нафтолом при нагревании с 96% H_2SO_4 с образованием желтоокрашенного соединения с голубоватой флюоресценцией. Глико-

левую кислоту из гликоколя, затрудняющую эту реакцию, можно удалить, осадив аспарагиновую кислоту в виде кальциевой соли по методу Ритгаузен — Формана или при помощи синтетических веществ, обменивающих ион; можно также выделить яблочную кислоту после дезаминирования путем осаждения ее из нейтрального раствора небольшим избытком насыщенного раствора основного ацетата свинца (Мак-Чесней [445]).

Фромажо и Гейц [245] предполагают, что можно определить сумму серина, аланина и аспарагиновой кислоты после дезаминирования их и окисления образующихся оксикислот до ацетальдегида при помощи $KMnO_4$ и $MnSO_4$. Отдельно можно определить аспарагиновую кислоту посредством этого метода, если предварительно отделить ее от моноаминокислот. (См. также «Дополнения», стр. 380).

Раздел 5

АНАЛИТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Так же как и в предыдущей главе, все значения для глютаминовой и аспарагиновой кислот рассчитаны на содержание азота в 16%. Большинство цифр, приводимых в нижеследующих таблицах, представляет минимальные величины. Для старых анализов результаты по глютаминовой кислоте, вероятно, на 25—50% ниже истинных; для аспарагиновой кислоты они, очевидно, на 50% ниже того, что можно было бы получить при помощи лучших новейших методов. Следует иметь это в виду при использовании старого материала для физико-химических подсчетов.

Содержание дикарбоновых аминокислот в *белках животного происхождения*

Вычислено на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Альбуминоиды:					
Желатина	Форeман	Дэкин — 185	18,0	5,2	3,0
Желатина	Форeман	Кингстон — 365		5,4	8,4
Коллаген		Тейс — 604	(16,0)	5,8	3,4
Эластин	Форeман	Штейн — 586	17,1	2,5	0,0

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Белки крови:					
Фебрин	Фореман	Бергман — 67	17,7	12,8	5,3
Фибрин	Изотопный	Риттенберг — 547	15,2	13,8.1*	11,9*
Гемоглобин	Фореман	Бергман — 67	17,0	3,3	6,0
Гемоглобин (бычий)	Фореман	Чибнэл — 158	(16,7)	5,6*	7,7*
Гемоглобин (лошади)	Фореман	Чибнэл — 158	(16,7)	5,8*	8,4*
Гемоглобин сыворотки	Фореман	Колвери — 145	16,0	6,8	4,7
Бенс-Джонс	Фишер	Абдергальден — 11	(16,0)	6,0	4,5
Бенс-Джонс	Фореман	Колвери — 143	18,0	8,6*	4,7*
Бенс-Джонс	Глазивец, Фишер	Гопкинс — 308	16,2	7,0	2,1
Яичные белки:					
Альбумин яичн.	Фореман	Чибнэл — 160	15,8	16,3*	8,2*
Альбумин яичн.	Фореман	Джюкс — 348	15,2	14,0	6,5
Альбумин яичн.	Фишер	Осборн — 497	15,5	9,4	2,3
Ливетин	Фореман	Джонс — 348	15,5	7,0	3,1
Вителлин	Глазивец	Абдергальден — 13	(16,3)	12,2	
Вителлин	Глазивец, Фишер	Осборн — 495	16,3	12,7	2,1
Гормоны, ферменты:					
Пепсин	Фореман	Колвери — 146	15,4	18,9	6,8
Секретин	Фореман	Агрэн — 26	(16,0)	6,4[a]	
Инсулин	Фореман	Иенсен — 320	15,5	21	
Кератины:					
Шерсть	Глазивец, Фишер	Абдергальден — 16	16,6	12,3	2,2
Шерсть	Фореман	Гордон — 261		10,1	5,5
Шерсть	Фореман	Спикман — 584	(16,0)	15,3*	7,3*
Волос конский	Фишер	Абдергальден — 9	(16,0)	3,7	—
Волос с коровьей шкуры	Фореман	Блок — 109	15,5	12,2*	3,0*
Перо гусиное	Фишер	Абдергальден — 10	(16,0)	2,3	—
Перо чайки	Фореман	Спикман — 584	(16,0)	9,7*	6,6*

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Рог (рог. скота)	Глазивец, Фишер	Абдергальден — 16	15,1	18,2	2,7
Рог (рог. скота)	Глазивец	Фишер — 224		15	
Scyllium (акула)	Фишер	Прегль — 529	15,1	7,6	2,4
Подскорлупная перепонка	Форeман	Абдергальден — 14	(16,0)	8,1	1,1
Подскорлупная перепонка	Форeман	Колвери — 142	16,6	9,7	3,3*
Спонгин	Фишер	Абдергальден — 12	(16,0)	18,1	4,7
Спонгин	Фишер	Кланси — 163		18,4	4,5
Белки печени:					
Карцинома	Форeман	Чибнэл — 157	16,2	10,6	6,9
Крыса	Глазивец?	Джонсон — 336	(16,0)	12,2	
Белки молока:					
Казеин	Форeман	Чибнэл — 158	15,6	21,3	6,3*
Казеин	Дэкин	Дэкин — 190	(15,6)		5,0
Казеин	Форeман	Форeман — 239	15,6	24,2*	1,8
Казеин	Форeман	Форeман — 240	15,6	22,3	1,8
Казеин	Форeман $Ca(OH)_2$	Опсэль — 486	15,5	16,9	
Казеин	Форeман $Ba(OH)_2$	Опсэль — 486	15,5	23,2	
Казеин	Дэкин, Форeман	Опсэль — 486	15,5	12,7	
Казеин	Пучер, Вильсон	Опсэль — 486	15,5	19,6	
Казеин	Глазивец	Осборн — 488	(15,6)	11,2	
Казеин	Глазивец	Осборн — 502	15,6	16,1	
Казеин человеч.	Глазивец, Фишер	Абдергальден — 17	(15,5)	11,0	6,3
Лактальбумин	Форeман	Джонс — 340	15,4	13,4	9,7
β-Лактоглобулин	Форeман	Чибнэл — 160	15,6	22,1*	10,1*
Белки мышцы:					
Треска	Фишер	Абдергальден — 24	13,6	8,8	0,7
Бык	Форeман	Джонс — 343	16,2	13,5	6,0*
Бык	Фишер	Осборн — 498	16,2	15,4*	4,1
Сельдь	—	Вакамату — 669	12,5	12,7	4,5
Рыба	Форeман	Джонс — 343	16,5	13,3	7,8

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Палтус	Фишер	Осборн — 493	(16,0)	10,1	2,7
Цыпленок	Фишер	Осборн — 493	(16,0)	16,5	3,2
Гребенник	Глазивец, Фишер	Осборн — 496	17,1	14,1	3,3
Миозин	Фореман	Шарп — 575		21,0 *	8,5 *
Белки тканей:					
Сердце	Фореман	Чибнэл — 157	14,3	13,3 *	6,9 *
Легкое	Фореман	Чибнэл — 157	15,3	9,3	
Хрусталик	Фишер	Хийиката — 298	(16,0)	15,5	
Мышь, саркома	Фореман	Чибнэл — 157	15,0	8,9	
Опухоль челов.	Изотопный	Граф — 265		11,3—14,6 *	
Опухоль	Коэн-Кребс	Удвард — 687	(16,0)	6—12	

* „Наиболее правильные данные“.
а Включая аспарагиновую кислоту.

Содержание дикарбоновых аминокислот в *растительных белках*

Вычислено на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Автотропные растения:					
Phormidium	Фореман	Мэзур — 442		7,4	1,4
Ulva	Фореман	Мэзур — 442		12,8	6,2
Laminaria	Фореман	Мэзур — 442		12,3	2,9
Sargassum	Фореман	Мэзур — 442		4,9	9,0
Chondrus	Фореман	Мэзур — 442		13,8	3,8
Биологич. активн.:					
Цитохром С	Фореман (азот)	Теорель — 605	15,4	16,4	5,3
Цитохром С	Фореман (выделение)	Теорель — 605	15,4	6,2	1,7
Желтый фермент	Фореман	Кун — 393	16,3	6,8	
Аллерген из хлопк. семени	Глазивец, Фореман	Спис — 585	19,8	11,5	
Аллерген из хлопк. семени	Глазивец, Фореман	Спис — 585	11,6	15,7	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Рицин	Фишер	Каррер — 555	(17,0)	19,0	1,9
	Фореман	Росс — 557	15,9	6,0	3,0
Тироцидин	Хроматогр.	Гордон — 261		10—12	9,3—10,5
Белки кукурузы:					
Зеин	Бразье	Бразье — 129	(16,1)	35,6 [*]	3,2
Зеин	Фореман	Дэкин — 186	(16,1)	31,3	1,8
Зеин	Аримо	Лэн — 398	(16,1)	30,9	3,4 [*]
Зеин	Глазивец, Фишер	Осборн — 490	16,1	18,3	1,4
Зеин	Глазивец, Фишер	Осборн — 499	16,1	26,5	1,7
Глютин	Колен-Кребс	Рейнгарт [a]		24,5 ± ± 0,4	
Белки листьев					
Cocksfoot					
Разное:	Фореман	Миллер — 452		13,1	5,3
Глобулин хлопк. семени	Глазивец	Абдергальден — 6	неизв.	17,2	
Глобулин кокос. ореха	Глазивец, Дэкин	Джонс — 334	18,5	16,6	4,5
Глобулин кокос. ореха	Глазивец, Фореман	Джонс — 339	18,5	16,2	3,4
Арахин	Фореман	Джонс — 332	18,3	14,6	4,6
Арахин	Фореман	Джонс — 343	18,3	17,0 [*]	4,9 [*]
Эдестин	Глазивец	Абдергальден — 3	неизв.	6,3	
Эдестин	Фореман	Гордон — 261		17,5	10,3
Эдестин	Фореман	Джонс — 343	18,8	16,3	8,7
Эдестин	Фореман	Чибнэл — 160	18,7	17,8 [*]	10,3 [*]
Глицинин	Фореман	Джонс — 343	17,0	17,4	8,8
Мука соевых бобов	?	Гейнрих — 286	?	19,1	3,7
Лупин	?	Гейнрих — 286	?	27,2	5,4
Латекс	Фореман	Тристрам — 620	15,0	12,9	9,9
Гордеин	Глазивец, Фишер	Клейншмитт — 369	17,2	38,4	1,2
Плесень	Фореман	Уллэй — 689	5,15	+	+
Белки пшеницы:					
Глиадин	Глазивец	Абдергальден — 7	неизв.	31,5	
Глиадин	Фореман	Чибнэл — 157	17,8	40,7	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глютамин. к-та, %	Аспарагин. к-та, %
Глиадин	Фореман	Чибнэл — 158	(17,8)	42,2*	1,3[a]*
Глиадин	Фореман	Джонс — 343	17,9	38,4	0,7
Глиадин	Глазивец, Фишер	Осборн — 503	(17,7)	46	
Глиадин	Глазивец	Осборн — 489	17,7	33,7	
Глютенин	Фореман	Джонс — 343	16,8	24,7	1,9
Лейкозин	Глазивец	Осборн — 489	16,8	6/4	3,2
Глютин	—	Падоа — 508		26,8	9,6

* „Наиболее правильные данные".
a Частное сообщение.

21 Зак. 4624. Блок и Боллинг.

Глава VII

ГЛИКОКОЛЬ И АЛАНИН

	Гликоколь	Аланин
Эмпирическая формула . . .	$C_2H_5O_2N$	$C_3H_7O_2N$
Оптическая форма	*l*	*d*
Молекулярный вес	75,05	89,07
Углерод	31,98	40,42
Водород	6,71	7,93
Азот	18,67	15,73
Кислород	42,64	35,92
Точка плавления	225—230°	297° (с разл.)

Раздел 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ

А. ВЫДЕЛЕНИЕ В ВИДЕ ЭФИРА ХЛОРГИДРАТА (ФИШЕР [223])

История вопроса. В 1902 г. Фишер нашел [223], что гликоколь может быть получен с хорошим выходом (79%) из казеиновых гидролизатов путем непосредственного осаждения его в виде эфира хлоргидрата. Этот метод полезен для препаративного выделения, но не для количественного определения.

Б. ВЫДЕЛЕНИЕ ПО МЕТОДУ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ЭФИРОВ ФИШЕРА [220]

История вопроса. Фишер, Осборн и их сотрудники установили, что та часть гликоколя, которая не выпадала из смеси в виде хлоргидрата гликоколя, могла быть отогнана в низкокипящих фракциях при перегонке эфиров. С тех пор методом выделения из низкокипящих фракций эфиров очень широко пользовались для определения содержания гликоколя в белковых гидролизатах. Левин показал [414], что при добавлении избытка пикриновой кислоты к смеси гликоколя и аланина, полученной из низкокипящих фракций эфиров, гликоколь выпадает в виде пикрата, если аланина не очень много. После перекристаллизации из воды пикрат гликоколя плавится при 190°.

Глава VII

ГЛИКОКОЛЬ И АЛАНИН

	Гликоколь	Аланин
Эмпирическая формула . . .	$C_2H_5O_2N$	$C_3H_7O_2N$
Оптическая форма	*l*	*d*
Молекулярный вес	75,05	89,07
Углерод	31,98	40,42
Водород	6,71	7,93
Азот	18,67	15,73
Кислород	42,64	35,92
Точка плавления	225—230°	297° (с разл.)

Раздел 1

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ

А. ВЫДЕЛЕНИЕ В ВИДЕ ЭФИРА ХЛОРГИДРАТА (ФИШЕР [223])

История вопроса. В 1902 г. Фишер нашел [223], что гликоколь может быть получен с хорошим выходом (79%) из казеиновых гидролизатов путем непосредственного осаждения его в виде эфира хлоргидрата. Этот метод полезен для препаративного выделения, но не для количественного определения.

Б. ВЫДЕЛЕНИЕ ПО МЕТОДУ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ЭФИРОВ ФИШЕРА [220]

История вопроса. Фишер, Осборн и их сотрудники установили, что та часть гликоколя, которая не выпадала из смеси в виде хлоргидрата гликоколя, могла быть отогнана в низкокипящих фракциях при перегонке эфиров. С тех пор методом выделения из низкокипящих фракций эфиров очень широко пользовались для определения содержания гликоколя в белковых гидролизатах. Левин показал [414], что при добавлении из-

В 1909 г. Осборн и Джонс [489] выделили из самых низкокипящих (100° водяной бани, 18 *мм* давления) фракций эфиров, полученных из 500 *г* гидролизата мышц быка, 1,9 *г* гликоколя, но в обыкновенном эфире, отогнанном из аминокислотной смеси при атмосферном давлении, им удалось обнаружить еще 8,5 *г* гликоколя. До того времени было принято считать, что в эфирный отгон, летящий при 35° и 760 *мм* давления, не могут попадать сравнительно высококипящие эфиры аминокислот, и этот отгон выбрасывали. Через год Осборн и Лидл [500] выделили значительные количества гликоколя, аланина и лейцина из подкисленного эфира, отогнанного от гидролизатной смеси. Они писали по этому поводу: «Эти результаты показывают, что в прежних анализах белков происходили серьезные потери аминокислот вследствие того, что не собиралась та часть их, которая перешла в отгон вместе с эфиром. Ввиду такого заключения и прочих известных трудностей эфирного метода все цифры, полученные для гликоколя и аланина по этому способу, сохраняют лишь качественный интерес».

В. ВЫДЕЛЕНИЕ КАРБАМАТА ГЛИКОКОЛЯ (КИНГСТОН И ШРЕЙВЕР [365])

Принцип метода. Карбамат гликоколя нерастворим в холодной воде.

Метод. Гидролизуют белок с 25% H_2SO_4, удаляют минеральную кислоту при помощи $Ba(OH)_2$, а образовавшийся $BaSO_4$ отфильтровывают и промывают. Вводят столько $Ba(OH)_2$, сколько нужно для реакции со всеми присутствующими карбоксильными группами, заранее определенными формольным титрованием на небольшой пробе гидролизата. Затем добавляют 2—3 объема этилового спирта в раствор и через несколько дней отделяют бариевые соли глютаминовой и аспарагиновой кислот.

К фильтрату при постоянном помешивании добавляют порошкообразного $Ba(OH)_2 \cdot 6H_2O$ до получения сильно щелочной реакции по фенолфталеину. Пропускают струю углекислоты до нейтральной по фенолфталеину реакции. Затем добавляют еще $Ba(OH)_2$ в порошке и потом опять CO_2. Этот прием повторяют несколько раз, пока не кончится переход в осадок азота. Все реакции проводятся при 0°. Отделяют карбаматы бария фильтрованием и промывают их спиртом и эфиром. Все карбаматы бария, за исключением карбамата гликоколя, растворимы в ледяной воде. Разлагают карбаматы кипячением в воде.

Примечание. Дэкин [185] нашел, что некоторое количество гликоколя может осесть в виде бариевой соли вместе с глютаминовой и аспарагиновой кислотами при осаждении их по Ритгаузену — Форейману.

Г. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ В ВИДЕ ТРИОКСАЛАТОХРОМИАТА (БЕРГМАН И ФОКС [64])

Бергман и Фокс нашли в 1935 г., что гликоколь образует в разбавленных кислых растворах нерастворимые соли с триоксалатохромиатом калия. Этот реактив был, очевидно, случайно приготовлен в 1830 г. (Вильтон Тэрнер [174]) и исследован затем Крофтом в 1842 г. [174] и Лапрайком в 1893 г. [403].

Реактивы. Триоксалатохромиат калия (Крофт [174], Лапрайк [403]). В горячий насыщенный раствор, содержащий 23 части оксалата калия и 55 частей кристаллической щавелевой кислоты, добавляют 19 частей $K_2Cr_2O_7$. Как только прекратится реакция, раствор выпаривают досуха. Остаток растворяют в воде и дают соединению выкристаллизовываться в плоских стеклянных кристаллизаторах. В случае необходимости соль перекристаллизовывают.

Метод (широко обоснован опытами Бергмана). Гидролизуют в течение ночи 5—10 *г* белка с HCl (1 : 1). Отгоняют избыток кислоты в вакууме и подщелачивают гидролизат по фенолфталеину KOH. После добавки спирта удаляют аммиак перегонкой в вакууме. Раствор подкисляют примерно до pH 2 HCl и обесцвечивают животным углем.

Фильтрат и промывные воды концентрируют до 50 *мл* и отмеривают в колбы Эрленмейера на 125 *мл* порции по 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 *мл* гидролизата. В каждую колбу добавляют столько 0,1; 0,2; 0,5 или 1,0 н. HCl, сколько нужно, чтобы довести объем до 10 *мл* при конечной концентрации HCl примерно 0,1 н. В каждую колбу добавляют по 3 *г* триоксалатохромата калия и встряхивают в течение 10 мин. для растворения соли. Затем вводят по 20 *мл* абсолютного этилового спирта и взбалтывают колбы в течение 6—8 час. После ночи в холодильнике осадки отделяют через стеклянные фильтры № 3 и промывают три раза порциями по 10 *мл* холодной спиртовой HCl (2 : 1). Осадки сушат на воздухе и растворяют в воде. После доведения до определенного объема берут пробы для определения азота в них. Содержание гликоколя рассчитывается на основании тех опытов, в которых содержится больше всего осажденного азота.

мг гликоколя = 5,36 × *мг* азота.

Примечание. Первоначально Бергман [64, 69] утверждал, что из всех обычных составных частей гидролизата только гликоколь осаждается триоксалатохроматом калия. Позднее Бергман и Штейн [70] установили, что это не верно, так как в осадок уходит также некоторое количество аммиака.

Если удаление аммиака из исходного белкового гидролизата не желательно, можно определить содержание гликоколя из разницы содержания общего азота и аммиака в осадке.

Бергман и Ниман [69] утверждают, что по этому методу в оптимальных условиях можно осадить из белкового гидролизата 88 ± 1% всего гликоколя. Однако их опыты были проведены, когда еще не была установлена ошибка, вносимая примесью аммиака в осадке.

Д. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ В ВИДЕ НИТРАНИЛАТА (ТОУН [617])

Основы метода. В 1936 г. Тоун [617] заявил, что гликоколь специфически осаждается из гидролизата, не содержащего аммиака, нитраниловой кислотой (2,5-диокси-3,6-динитро-*п*-бензохиноном) в присутствии избытка спирта.

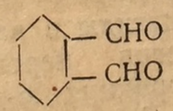
Метод. Удаляют аммиак из гидролизата 200—300 *мг* белка при помощи $Ba(OH)_2$. Барий осаждают из раствора небольшим избытком H_2SO_4, отделяют $BaSO_4$ и концентрируют фильтрат и промывные воды до 4 *мл*. После добавки 30 *мл* абсолютного спирта отделяют вновь образовавшийся осадок $BaSO_4$. Затем вносят 5 *мл* свежеприготовленного раствора 300 *мг* нитраниловой кислоты в абсолютном спирте. Оставляют стоять ночь, фильтруют и взвешивают нитранилат гликоколя.

Примечание. Штейн и Миллер [586] показали, что вместе с гликоколем из аминокислотной смеси осаждается 82% гистидина. Таким образом, этот метод пригоден только в отсутствие гистидина (и лизина). С другой стороны, применение нитраниловой кислоты по Тоуну дало наилучшие выходы при выделении гистидина (см. гл. I).

2. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛИКОКОЛЯ

А. РЕАКЦИЯ ЦИММЕРМАНА С ОРТОФТАЛЕВЫМ ДИАЛЬДЕГИДОМ [697]

Основы метода. Гликоколь дает с *о*-фталевым диальдегидом фиолетовое окрашивание.



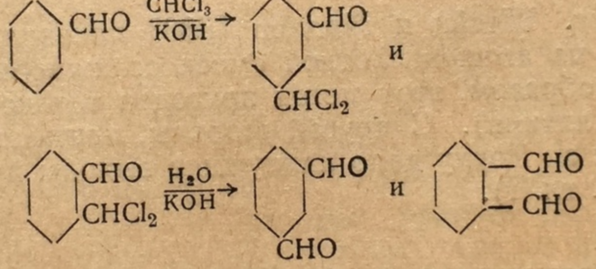
Реактивы. Метод Циммермана [697]. 10 *г* тетрабром-*о*-ксилола кипятят в течение 40 час. с обратным холодильником с 9 *г* оксалата калия, 62 *мл* воды и 62 *мл* 95% этилового спирта. Отгоняют 50 *мл* спирта и вносят 10 *г* Na_3PO_4 и 300 *мл* воды в колбу с остатком. Отгоняют от 250 до 300 *мл* воды и хранят дестиллят в темной склянке, предохраняя ее от солнечного света.

Метод Сандстрома и Лилливика [564]. Приготавливают прибор с трехгорлой колбой, снабженной хлоркальциевой трубкой,

капельной воронкой и мешалкой. Колбу охлаждают льдом и вводят в нее 150 *мл* уксусного ангидрида, 10 *г* *о*-ксилола и 8 *мл* крепкой H_2SO_4. Затем растворяют 26 *г* CrO_3 в смеси из 50 *мл* уксусного ангидрида и 60 *мл* ледяной уксусной кислоты и по каплям вводят хромовую кислоту при работающей мешалке. Реакционную колбу оставляют во льду в течение 4—5 час. при постоянном размешивании. Затем содержимое выливают в литровый стакан, на одну четверть наполненный битым льдом. Оставляют на ночь при 0°, масло извлекают эфиром, эфирный слой промывают водой и сушат над Na_2SO_4. Эфир отгоняют.

Остаток состоит из уксусной кислоты и тетраацетата фталевого альдегида. Прибавляют к нему 50 *мл* 10% H_2SO_4 и отгоняют альдегид с паром до тех пор, пока несколько капель отгона еще дают синее окрашивание с NH_4OH и CH_3COOH. По этому способу получают около 500 *мл* реактива на гликоколь. Сохраняют его в темной склянке и перед употреблением доводят до pH 7,4—7,8 при помощи фосфатного буфера.

Метод Шаудури [154].



Кипятят с обратным холодильником смесь из 10 *мл* чистого C_6H_5CHO, 8 *мл* $CHCl_3$ и 30 *г* KOH в 50 *мл* воды. После прекращения реакции смесь встряхивают и нагревают на масляной бане при 140—150° в течение 6 час. Отгоняют избыток хлороформа и бензальдегида. Промывают осадок несколько раз водой и фракционируют хлоральдегиды в вакууме.

о-Дихлорметилбензальдегид перегоняется при 170—175°, а бóльшая по объему фракция *м*-дихлорметилбензальдегида переходит при 192—196°. Гидролизуют *о*-дихлорметилбензальдегид водным KOH в течение 40—45 мин., охлаждают и подкисляют раствор HCl. При стоянии на холоду *о*-фталевый диальдегид выпадает в кристаллическом виде.

Метод. К нейтральному 1% раствору гликоколя добавляют 10 капель 2 н. KOH и 8 капель реактива из фталевого диальдегида, встряхивают 10 сек. и затем подкисляют раствор 10 каплями крепкой HCl. Появляется фиолетовое окрашивание.

Примечание. Аммиак, гистидин, цистеин, триптофан и аргинин мешают реакции (Циммерман [697], Абдергальден [22]).

Б. МЕТОД ЦИММЕРМАНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ КЛЕЙНОМ И ЛИНЗЕРОМ [368]

Основы метода. Кроме гликоколя, единственными веществами, дающими растворимую в $CHCl_3$ окраску с *о*-фталевым диальдегидом, являются аммиак и триптофан. Оба эти соединения можно легко удалить из гидролизата.

Метод. *а*) Макроопределение. Применяется при наличии 0,5 *мг* гликоколя. К 10 *мг* нейтрального белкового гидролизата, освобожденного от аммиака и триптофана, прибавляют 15 *мл* свежеприготовленной смеси из 25 частей $^1/_{15}$ мол. фосфатного буфера рН 8,0 и 75 частей реактива Циммермана с *о*-фталевым диальдегидом. Встряхивают ровно 2 мин. и вносят 35 *мл* свежеприготовленной смеси из 5 частей конц. H_2SO_4 и 30 частей 95% этилового спирта. Опять встряхивают 2 мин., после чего приливают 30 *мл* хлороформа, сильно размешивают и отделяют слой хлороформа. Прибавляют 1 *мл* этилового спирта на каждые 5 *мл* $CHCl_3$ и измеряют окраску в колориметре относительно окраски стандартного раствора гликоколя с фильтром 570 μ.

б) Микроопределение. Применяется при количествах гликоколя порядка 0,05 *мл.* Смешивают 0,5 *мл* нейтрального раствора гликоколя с 0,75 *мл* буферного раствора, встряхивают 2 мин. и вносят 1 *мл* алкогольной H_2SO_4. Через 2 мин. встряхивания экстрагируют окрашенное соединение 5 *мл* $CHCl_3$. Отбирают 3 *мл* $CHCl_3$ пипеткой и прибавляют 0,5 *мл* спирта. Измеряют фиолетовую окраску.

Примечание. Клейн и Линзер [368] подчеркивают, что все условия при определении должны строго соблюдаться, так как интенсивность окраски изменяется в зависимости от количества *о*-фталевого альдегида и т. д. Они предлагают отгонять аммиак из подщелоченного NaOH гидролизата в вакууме. Триптофан осаждается сульфатом ртути (см. гл. II).

В. МЕТОД ЦИММЕРМАН—КЛЕЙНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ПАТТОНОМ [511]

Метод. *а*) Гидролиз, разрушение триптофана и удаление аммиака. Нагревают 3 *г* белка с 50 *мл* HCl (1 : 1) до полного растворения его. Затем добавляют 1 *мл* бензальдегида и гидролизуют еще в течение 24 час. После упарки гидролизата в вакууме для удаления избытка HCl и C_6H_5CHO остаток разбавляют водой, подщелачивают NaOH или $NaHCO_3$ и отгоняют аммиак в вакууме. Нейтрализуют гидролизат до рН 6—8 и концентрируют его до 10 *мл.* Если образуется осадок, его от-

деляют и промывают 70% этиловым спиртом. Разбавляют гидролизат до 100 *мл*.

б) Образование окраски. К 5 *мл* гидролизата, освобожденного от триптофана и аммиака, добавляют сначала 2 *мл* фосфатного буфера ($^1/_{15}$ мол., pH 8,0) и затем 5 *мл* раствора *о*-фталевого диальдегида. После каждого добавления размешивают и дают постоять 2 мин. Вводят 5 *мл* свежеприготовленной, охлажденной смеси из 60 *мл* этилового спирта и 10 *мл* H_2SO_4. Смешивают и экстрагируют окраску 10 *мл* $CHCl_3$, встряхивая ровно 30 сек. Отделяют слой хлороформа и отбирают сухой пипеткой 5 *мл* раствора. Прибавляют 1 *мл* этилового спирта к хлороформному раствору и встряхивают до исчезновения мутности. Окраску сравнивают со стандартом, приготовленным таким же образом. В качестве глухого опыта на реактивы рекомендуется употреблять гидролизат зеина, не содержащий гликоколя. Измерение окраски производят со светофильтром 560 *мμ*.

Примечание. Согласно отзывам Клейна и Линзера, а также Паттона, метод Циммермана дал весьма удовлетворительные результаты.

Введение бензальдегида в гидролизат обычно бывает излишним.

3. РАЗНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОКОЛЯ

Примечание. Рапопорт [537] описал метод окисления для определения суммы серина и гликоколя, а Абдергальден отметил, что гликоколь дает сине-фиолетовое окрашивание при обработке пирокатехином в щелочном растворе.

Раздел 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛАНИНА

1. ВЫДЕЛЕНИЕ АЛАНИНА

Примечание. Выделение аланина из низкокипящих фракций эфиров аминокислот и осаждение его фосфорновольфрамовой кислотой по Левину и Ван-Сляйку [417] было описано в гл. V, раздел 1.

В 1937 г. Бергман и Ниман [68, 69] описали способ выделения аланина в виде оксалатохромата после удаления гликоколя при помощи триоксалатохромата калия. Этот сложный прием был применен при анализе фиброина шелка, который, как известно, содержит необычно много аланина. Диоксипиридатный метод Бергмана редко применялся, и более подробного описания его еще не появлялось.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛАНИНА ПО СОДЕРЖАНИЮ АЦЕТАЛЬДЕГИДА

А. МЕТОД КЕНДАЛЯ И ФРИДЕМАНА [358]

Основы метода. Аланин дезаминируют до молочной кислоты и последнюю количественно определяют по выходу ацетальдегида.

Метод. Растворяют от 10 до 50 *мг* аланина и 500 *мг* $NaHSO_4$ в 75 *мл* воды и помещают раствор в кипящую водяную баню. Из капельной воронки приливают 15 *мл* 2,5% $NaNO_2$ со скоростью 1 *мл* в мин. Затем тем же способом вводят 15 *мл* 7,5% мочевины. Споласкивают воронку и в случае необходимости осаждают углеводы 20 *мл* 20% суспензии $Ca(OH)_2$. Разводят раствор до 250 *мл* и определяют молочную кислоту окислением ее до CH_3CHO при помощи $KMnO_4$ и $MnSO_4$, согласно Фридеману и Кендалю ([244]; см. Петерс и Ван-Сляйк [516]). Отгоняют ацетальдегид в раствор бисульфита натрия и оттитровывают связанный альдегид иодом.

Примечание. Кендаль и Фридеман [358] считают, что по этому методу определяется 98% аланина. Они, однако, не проверили его на белковых гидролизатах.

Мак-Чесней [445] нашел, что при условиях окисления, данных Кендалем и Фридеманом [358] для определения молочной кислоты, яблочная и лимонная кислоты образуют соответственно ацетальдегид и ацетон. Он предложил удалять лимонную и яблочную кислоты осаждением их небольшим избытком основного ацетата свинца при нейтральной реакции. Остающаяся в фильтрате молочная кислота определяется перманганатным окислением.

Позднее Мак-Чесней [446] установил, что при условиях, описанных Кендалем и Фридеманом, только 91% аланина превращается в молочную кислоту, тогда как образование летучих альдегидов, отличных от CH_3CHO, из оксикислот, присутствующих в белковом гидролизате, ведет к преувеличению результатов.

Фюрт и др. [253] удаляли дикарбоновые аминокислоты из гидролизата по методу Ритгаузена — Форемана (гл. V). Для задержания высших летучих альдегидов они применяли хорошо работающий дефлегматор. Выходы аланина, добавленного к гидролизату, колебались между 91 и 96%.

Б. ИЗМЕНЕНИЯ МЕТОДА, ВНЕСЕННЫЕ ФРОМАЖО И ГЕЙЦОМ [245] И ДЕНЮЭЛЕМ [194]

Основы метода. При перманганатном окислении оксикислот, полученных из белковых гидролизатов, ацетальдегид образуется в присутствии ацетата ртути только за счет молочной кислоты. Ацетальдегид можно определить колориметрически при помощи строго специфичной реакции с пиперазином и нитропруссидом натрия.

Метод. *а*) Окисление. Дезаминируют аминокислоты в белковом гидролизате одним из существующих методов (ср. выше А или гл. V). Затем на 10 *мл* раствора оксикислот добавляют 10 *мл* 2 н. H_3PO_4, 10 *мл* 10% $MnSO_4$ и 5 *мл* 5% ацетата ртути в 1% уксусной кислоте. Нагревают до кипения и вводят 0,2 н. $KMnO_4$ со скоростью одной капли в секунду в течение 10 мин., нагревают еще 10 мин. и отгоняют ацетальдегид в $NaHSO_3$.

б) Определение ацетальдегида. Разрушают избыток $NaHSO_3$ при помощи иода, а избыток иода — каплей 0,1 н. $NaHSO_3$. В пробирку отбирают 1—6 *мл* этого раствора и разводят до объема в 6 *мл* раствором, содержащим все реактивы в тех же концентрациях, как в испытуемом растворе, за исключением, конечно, ацетальдегида. Добавляют 1,5 *мл* 33% водного пиперазина и 0,5 *мл* свежеприготовленного 4% раствора нитропруссида натрия. Размешивают и измеряют на фотоэлектрическом колориметре момент максимального отклонения стрелки за промежуток времени в 2 мин. Употребляют светофильтры 560 и 570 μ. Окраска пропорциональна концентрации ацетальдегида, если последний взят в пределах 200—700 микрограммов.

Примечание. При помощи этого метода были получены выходы в 94—97% аланина [245, 194]. Применение нитропруссидной реакции исключает возможность получения завышенных результатов за счет улетучивания высших летучих альдегидов.

Возможное образование ацетальдегида из 1,2-диоксимасляной кислоты (из треонина) как будто не было исследовано.

в. МЕТОД БЛОКА, БОЛЛИНГ И УЭББА [103, 104][24]

Основы метода. Аланин дезаминируют в молочную кислоту, которую, в свою очередь, количественно окисляют до ацетальдегида при помощи сульфата церия, согласно процедуре Гордона и Куастеля [260]. Ацетальдегид определяется колориметрически по методу Игрю с *п*-оксидифенилом (см. гл. VI).

Аппаратура. Установка для поглощения газов (ср. гл. IV, раздел 1А, 1Г).

Метод. Гидролизуют 10—15 *мг* белка с несколькими *мл* HCl (1 : 1) в течение 16—20 час. Отгоняют избыток HCl и растворяют остаток в воде, не содержащей спирта. Аминокислоты дезаминируют при помощи 2 *мл* 13,8% $NaNO_2$ и 2 *мл* H_2SO_4 (1 : 3) (см. гл. V). Через 10 мин. стояния при комнатной температуре разрушают избыток HNO_2 нагреванием на водяной бане в течение еще 10 мин. Раствор оксикислот разбавляют с таким расчетом, чтобы 1 *мл* его соответствовал 0,5—1,0 *мг* белка. Определенный объем отмеривают в пробирку для окисления и включают ее в прибор, состоящий из серии поглотителей для

газов. Такой прибор описан для микроопределения треонина при помощи *п*-оксидифенила (см. гл. IV, раздел 2, подраздел 1Г). В пробирку вносят 5 *мл* 10% $Ce(HSO_4)_4$ в 1 н. H_2SO_4 и 10 *мл* воды. Окисление молочной кислоты в ацетальдегид заканчивается при 50° водяной бани за 30 мин. За это же время ацетальдегид выдувают в 15 *мл* крепкой H_2SO_4, содержащей избыток *п*-оксидифенила. Всю операцию проводят так, как описано в гл. IV, раздел 2, подраздел 1Г, за исключением того, что ток воздуха, уносящий ацетальдегид, сушат, пропуская его через трубку с натронной известью. Заканчивают определение так же, как описано для треонина.

Примечание. При окислении сульфатом церия 1,2-диоксимасляная кислота, образующаяся за счет дезаминирования треонина, переходит в теоретическое количество ацетальдегида. Поэтому в присутствии треонина содержание аланина рассчитывают из разности между количеством ацетальдегида, образовавшегося при окислении сульфатом церия после дезаминирования, и количеством его, полученным при окислении периодатом натрия без дезаминирования. (См. также «Дополнения», стр. 380.)

Следует соблюдать все предосторожности, указанные при определении треонина.

Интенсивность окраски можно увеличить добавлением следов ионов окисной меди в серную кислоту (Баркер и Соммерсон [49]).

Для определения аланина, вероятно, возможно также применить микродиффузионную технику Конуэйя [169, 170] в обработке Уинника [684] (см. гл. IV, раздел 2, подраздел 1В).

Г. ОКИСЛЕНИЕ АЛАНИНА В АЦЕТАЛЬДЕГИД ПРИ ПОМОЩИ НИНГИДРИНА (ВИРТАНЕН, ЛЭН И ТОЙВОНЕН [663])

Основы метода. Все аминокислоты, за исключением гликоколя, при окислении трикетогидринденгидратом (нингидрином) в слабокислой среде переходят в NH_3, CO_2 и ближайший низший альдегид (Руэман [559]).

Метод. *а*) Гидролиз и осаждение дикарбоновых кислот. 1 *г* белка гидролизуют с 10 *мл* конц. HCl в течение 6 час., отгоняют избыток минеральной кислоты и разводят остаток водой до 10 *мл*. Вводят 5 *мл* 20% суспензии $Ca(OH)_2$ и затем при размешивании 100 *мл* этилового спирта отделяют осадок, концентрируют фильтрат для удаления спирта и растворяют остаток в 50 *мл* воды.

б) Окисление. Определенную часть раствора с содержанием аланина в 0,2—2,0 *мг* вносят в круглодонную колбочку с пришлифованным холодильником и с боковой вводной трубкой для газа. Разводят до 10 *мл* и добавляют 7,5 *г* сульфата аммония и

0,5 *г* лимонной кислоты. При умеренном кипении прибавляют 2 *мл* 1% раствора нингидрина. Пропускают в течение 15 мин. ток воздуха для перевода образующегося ацетальдегида в приемник с 4 *мл* 1% $NaHSO_3$. Если применяемый метод определения не специфичен для ацетальдегида, нужно применять хорошо фракционирующий дефлегматор для задержания высших альдегидов.

в) Определение. Избыток $NaHSO_3$ удаляют 0,1 н. иодом, а избыток добавленного иода разрушают минимальным количеством 0,01 н. $NaHSO_3$. В раствор в качестве индикатора вводят раствор крахмала. Связанный бисульфит натрия освобождают при помощи избытка $NaHCO_3$ и титруют свободный бисульфит 0,01 н. иодом.

$$1\ \textit{мл}\ 0{,}01\ I_2 \approx 0{,}445\ \textit{мг}\ \text{аланина.}$$

Примечание. Можно также вместо приведенной методики использовать указания Ван-Сляйка и др. [636, 637, 638] и Кристенсена и др. [161] по окислению нингидрином (см. гл. I, раздел 4, подраздел 1).

Метод окисления нингидрином с последующим определением ацетальдегида более специфичными *п*-оксидифенилом [206] (ср. гл. IV, раздел 2, подраздел 1А) или пиперазин-нитропруссидом натрия [245, 194] (см. эту главу, раздел 2, подраздел 2Б) обещает стать наилучшим микрометодом для определения аланина.

Нейбергер и Зангер [474] нашли, что аспарагиновая кислота не образует заметных количеств ацетальдегида при окислении нингидрином. Поэтому они не считают нужным проводить исходное осаждение дикарбоновых аминокислот по Ритгаузену — Форeману.

Раздел 3

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Все значения для аминокислот в последующих таблицах рассчитаны на 16% азота.

Следует иметь в виду, что большинство приводимых цифр представляет минимальные величины или даже приближения к истинным количествам гликоколя и аланина в белковых гидролизатах. Все же можно сделать некоторые общие выводы из этих данных.

Белки животного происхождения. Соединительные, опорные и эластические ткани необычайно богаты гликоколем; наоборот, молоко, яйца и белки тканей содержат лишь малые количества этой аминокислоты. Хорошо известно высокое содержание гликоколя и аланина в фиброине шелка.

Содержание гликоколя и аланина в *белках животного происхождения*

Вычислено на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Гликоколь, %	Аланин, %
Альбуминоиды:					
Желатина	Бергман	Бергман — 70	(18,3)	22,8	—
Желатина	Бергман	Бергман — 70	(18,3)	23,6*	—
Желатина	Карбаматный	Кингстон — 365	—	15,6	—
Желатина	Дэкин-Фишер	Дэкин — 185	(18,0)	23	6
Желатина	Кендаль	Фюрт — 253	18,3	—	22
Желатина	Тоун	Тоун — 617	(16,0)	25,9	—
Желатина	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	22,2	—
Желатина	Хроматограф.	Гордон — 261			9,2*
Коллаген	Бергман	Бергман — 70	(18,6)	22,8	—
Коллаген (кожа)	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	6,9	—
Эластин	Фишер	Абдергальден — 4	(17,1)	24	6
Эластин	Бергман	Штейн — 586	17,1	27,5*	0
Белок в животном:					
Крыса, эмбрион	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	10,6	
Цыпленок, норм.	Циммерман	Паттон — 512	(16,0)	9,3	
Цыпленок, патол.	Циммерман	Паттон — 512	(16,0)	6,6 [a]	
Белки крови:					
Фибрин	Изотопный	Риттенберг — 547	15,2	5,4*	
Гемоглобин лошад.	Фишер	Абдергальден — 2	(16,7)		4
Гемоглобин лошад.	Циммерман	Паттон — 511	(16,7)	<0,4	—
Гемоглобин	Фромажо	Рош — 552	(16,7)		7—8
Глобулин сывор.	Фишер	Абдергальден — 5	(16,0)	5	2
Бенс-Джонс **	Фишер	Абдергальден — 11	(16,0)	2	5
Белки яйца:					
Альбумин	Виртанен	Виртанен — 663	12,1		
Альбумин	Бергман	Штейн — 588А	(15,5)	3,3	

* „Наиболее правильные данные".

** Белковый препарат Бенс-Джонса.

а Хондродистрофия.

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Гликоколь, %	Аланин, %
Альбумин	Циммерман	Паттон — 511	(15,4)	1,9 *	
Альбумин	Фишер	Осборн — 497	15,5	0	2
Вителлин	Фишер	Абдергальден — 13	(16,3)	1	
Вителлин	Циммерман	Паттон — 511	(16,3)	0,8	
Вителлин	Фишер	Осборн — 495	16,3	0	<1
Ливетин	Кендаль	Джюкс — 348	15,5	—	6,4
Цельное яйцо	Циммерман	Паттон — 512	16,0	2,2 *	—
Цельное яйцо	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	2,7	—
Кератины:					
Волос конский	Фишер	Абдергальден — 9	(16,6)	4	1
Волос коровьей шкуры	Бергман	Блок — 109	15,3	10,8	—
Волос человека	Бергман	Блок — 97	15,4	4,5	—
Шерсть	Бергман	Блок — 97	15,4	6,8	—
Шерсть	Фишер	Абдергальден — 16	16,6	1	4
Шерсть	Хроматограф.	Гордон — 261В	—	—	4,0
Рог (крупн. рог. скота)	Фишер	Абдергальден — 16	15,1	1	2
Рог (крупн. рог. скота)	Кендаль	Фюрт — 253	18,3	—	2,2
Рог (крупн. рог. скота)	Бергман	Блок — 97	16,1	9,7	—
Перо гусиное	Фишер	Абдергальден — 10	(16,6)	2	2
Подскорлупная перепонка	Фишер	Абдергальден — 14	(16,0)	4	4
Акула	Фишер	Прегль — 529	15,1	3	3
Спонгин	Фишер	Абдергальден — 12	(16,0)	14	—
Спонгин	Фишер	Кланси — 163	—	14	—
Спонгин	Бергман	Блок — 96	13,0	17,7 *	—
Кожа змеиная	Бергман	Блок — 97	15,2	13,8	—
Фиброин шелка	Фишер	Абдергальден — 20	19	—	21
Фиброин шелка	Бергман	Бергман — 69	19,0	36,8 *	22,2 *

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Гликоколь, %	Аланин, %
Фиброин шелка	Кендаль	Фюрт — 253	(19,0)	—	18,4
Фиброин шелка	Фишер, Шербюле	Шербюле — 156	(19,0)	29,8	—
Фиброин шелка	Бергман	Штейн — 588А	(19,0)	37,4	
Белки, содержащие металл:					
Ферритин	Циммерман	Кун — 396	8,4	2,1	—
Глобин мышечн.	Фромажо	Рош — 552	16,0	—	6—9
Гемоцианин	Фромажо	Рош — 552	(16,0)	—	4—7
Белки молока:					
Казеин	Фромажо	Денюэль — 194	15,7	—	2,8
Казеин	Фишер	Фореман — 240	15,6	1	2
Казеин	Кендаль	Фюрт — 253	15,4	—	5,5
Казеин	Фишер	Осборн — 502	15,6	0	2
Казеин	Циммерман	Пиммер — 523	14,0	0,6 *	—
Казеин	Тоун	Тоун — 617	(14,5) *	4,5	—
Казеин	Виртанен	Виртанен — 663	13,5	—	5,7 *
Казеин	Циммерман	Паттон — 511	(15,4)	0,5	—
Лактальбумин	Циммерман	Паттон — 511	(15,5)	0,0	
Лактальбумин	Фишер	Джонс — 340	15,4-	<1	—
Белки мышцы:					
Треска	Фишер	Абдергальден — 24	13,6		7
Сельдь	—	Вакамату — 669	12,5	0	4
Цыпленок	Фишер	Осборн — 493	(16,0)	<1	2
Гребенник	Фишер	Осборн — 496	17,1	0	—
Бык	Фишер	Осборн — 498	16,2	2	4
Миозин	Фишер	Шарп — 575	16,8	2	4
Бык	Циммерман	Не опубликовано	16,1	5	—
Белки тканей:					
Мозг	Кендаль	Каплан-ский — 354	15,2	—	5,8
Хрусталик	Кендаль	Хийиката — 298	(16,0)	—	5
Печень	Циммерман	Не опубликовано	13,3	8,5	

* „Наиболее правильные данные“.

Содержание гликоколя и аланина в *растительных белках*

Вычислено на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Глико-коль, %	Аланин, %
Автотропные растения:					
Разные	Бергман-Бразье	Мэзур — 442	—	0,5—2,3	3,8—6,6
Биологически активные:					
Грамицидин	Кендаль	Кристен-сен — 162	14,6	—	3,3
Грамицидин	Кендаль	Гочкисс — 310	14,8	—	25—36
Грамицидин	Хроматогр.	Гордон — 261С	—	4,5—5,7	10,3
Тироцидин	Кендаль	Кристен-сен — 162	14,5	—	15
Вирус табачной мозаики	Циммерман, Бергман	Росс — 557	15,9	0,0	2,8
Желтый фермент	Фромажо	Денюэль — 194	16,3	—	8,1
Белки кукурузы:					
Зеин	Бразье	Бразье — 129	17,5	0	5
Зеин	Виртанен	Лэн — 398	(16,0)	—	9,9
Зеин	Дэкин-Фишер	Дэкин — 186	16,1	—	3
Зеин	Кендаль	Фюрт — 253	16,1	—	8,9
Зеин	Фишер	Осборн — 490	16,1	0	2
Зеин	Фишер	Осборн — 500	16,1	—	10
Зеин	Виртанен	Виртанен — 663	14,5	—	9,9*
Зеин	Циммерман	Паттон — 511	(16,1)	0,0*	—
Глутенин	Фишер	Осборн — 490	(16,0)	<1	—
Глутенин	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	0,8	—
Глутин	Циммерман	Не опубликовано	11,8	4,3	—
Остаток от выдел. зеина	Циммерман	Не опубликовано	10,9	9,6	—
Разные:					
Глобулин хлопк. семян	Фишер	Абдергальден — 6	(18,6)	1	4

* „Наиболее правильные данные".

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Азот, %	Гликоколь, %	Аланин, %
Мука из хлопк. семян	Циммерман	Не опубликовано	10,9	5,3	—
Арахин	Фишер	Джонс — 322	18,3	0	4
Арахин	Циммерман	Паттон — 511	(18,3)	1,8	—
Мука из земл. ореха	Циммерман	Не опубликовано	(10,4)	5,6	—
Эдестин	Фишер	Абдергальден — 1	18,6	4	3
Эдестин	Фромажо	Денюэль — 194	18,7	—	4,8
Эдестин	Циммерман	Паттон — 511	(18,7)	1,6*	—
Глицинин	Циммерман	Паттон — 511	(17,0)	1,4	—
Гордеин	Фишер	Клейншмит — 369	17,2	—	1
Гордеин	Циммерман	Паттон — 511	(17,2)	0,0	—
Глобулин подсолнечника	Фишер	Абдергальден — 8	(18,6)	2	4
Белки пшеницы:					
Глиадин	Фишер	Абдергальден — 7	(17,7)	1	3
Глиадин	Фишер	Осборн — 489	17,7		2
Глиадин	Фишер	Осборн — 503	17,7	0	<2
Глиадин	Циммерман	Паттон — 511	(17,7)	<0,5	
Глутенин	Фишер	Осборн — 489	17,5	<1	4
Глутенин	Циммерман	Паттон — 511	(16,0)	0,8	—
Глютин		Падоа — 508	?	9	5
Глютин	Циммерман	Не опубликовано	13,5	7,2	—

* „Наиболее правильные данные".

Глава VIII

ПРОЛИН И ОКСИПРОЛИН

	Пролин	Оксипролин
Эмпирическая формула	$C_5H_9O_2N$	$C_5H_9O_3N$
Оптическая форма	*l*	*l*
Молекулярный вес	115,08	131,08
Углерод	52,14	45,77
Водород	7,88	6,92
Азот	12,17	10,69
Кислород	27,81	36,62
Точка плавления	220—222°	270°

Раздел 1

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА

А. МЕТОД ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ЭФИРОВ ФИШЕРА (ФИШЕР [220], ВАН-СЛЯЙК [629])

Основы метода. Фракция эфиров аминокислот, переходящая ниже 90°, при 0,5 *мм* давления подвергается гидролизу; раствор свободных аминокислот выпаривают досуха и сухой остаток тщательно экстрагируют абсолютным спиртом. Содержание пролина определяют в той части остатка, которая полностью растворится в холодном абсолютном спирте. Для определения осаждают пролин в виде медной соли или в виде комплексного соединения с хлоридом кадмия или в виде пикрата; можно также вычислить содержание пролина по неаминному азоту.

Б. ПРЯМАЯ ЭКСТРАКЦИЯ РАСТВОРИТЕЛЕМ (ДЭКИН [183, 185])

Основы метода. Избыток минеральной кислоты H_2SO_4 удаляют из гидролизата баритом и устанавливают оптимальную для экстракции реакцию раствора при помощи $Ba(OH)_2$, обычно около pH 6. Затем раствор экстрагируют нормальным бутиловым спиртом при атмосферном или, еще лучше, при пониженном давлении до тех пор, пока в экстракт не перестанут переходить заметные количества аминокислот. Экстракт выпаривают досуха и остаток тщательно экстрагируют абсолютным

Глава VIII

ПРОЛИН И ОКСИПРОЛИН

	Пролин	Оксипролин
Эмпирическая формула	$C_5H_9O_2N$	$C_5H_9O_3N$
Оптическая форма	*l*	*l*
Молекулярный вес	115,08	131,08
Углерод	52,14	45,77
Водород	7,88	6,92
Азот	12,17	10,69
Кислород	27,81	36,62
Точка плавления	220—222°	270°

Раздел 1

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА

А. МЕТОД ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ЭФИРОВ ФИШЕРА (ФИШЕР [220], ВАН-СЛАЙК [629])

Основы метода. Фракция эфиров аминокислот, переходящая ниже 90°, при 0,5 *мм* давления подвергается гидролизу; раствор свободных аминокислот выпаривают досуха и сухой остаток тщательно экстрагируют абсолютным спиртом. Содержание пролина определяют в той части остатка, которая полностью растворится в холодном абсолютном спирте. Для определения осаждают пролин в виде медной соли или в виде комплексного соединения с хлоридом кадмия или в виде пикрата; можно также вычислить содержание пролина по неаминному азоту.

Б. ПРЯМАЯ ЭКСТРАКЦИЯ РАСТВОРИТЕЛЕМ (ДЭКИН [183, 185])

Основы метода. Избыток минеральной кислоты H_2SO_4 удаляют из гидролизата баритом и устанавливают оптимальную для экстракции реакцию раствора при помощи $Ba(OH)_2$, обычно около pH 6. Затем раствор экстрагируют нормальным бути-

этиловым спиртом. Пролин определяют в спиртовом растворе по одному из вышеуказанных (А) методов.

При благоприятных условиях оксипролин не извлекается этиловым спиртом, но может быть выделен из остающейся смеси моноаминокислот последующей экстракцией *н*-пропиловым спиртом. Сухой остаток от этой экстракции растворяют в воде и осаждают все аминокислоты, присутствующие в нем, кроме оксипролина, 9 объемами метилового спирта. Содержание оксипролина можно определить в фильтрате от этого осадка по количеству неаминного азота.

В. МЕТОД ДЭКИНА В ИЗЛОЖЕНИИ ФЮРТА И МИННИБЕКА [252]

Основы метода. После удаления основных аминокислот извлекают пролин и оксипролин бутиловым спиртом (Дэкин [183, 185]). От прочих моноаминокислот в экстракте пролин отделяют обработкой сухой смеси аминокислот этиловым спиртом, после чего из этого же осадка извлекают оксипролин при помощи пропилового спирта.

Метод. Гидролизуют белок соляной кислотой, удаляют избыток HCl в вакууме и аммиак при помощи извести. Основания осаждают фосфорно-24-вольфрамовой кислотой по Ван-Сляйку (ср. гл. I). Избыток фосфорновольфрамовой кислоты осаждают $Ba(OH)_2$, а избыток Ba^{++} — серной кислотой. Раствор выпаривают досуха в присутствии инфузорной земли и сухой остаток извлекают горячим бутиловым спиртом, пока больше ничего не будет переходить в раствор.

Отгоняют бутиловый спирт и тщательно обрабатывают остаток абсолютным этиловым спиртом. Пролин из спиртового раствора осаждают хлоридом кадмия и рассчитывают его содержание по неаминному азоту кадмиевого осадка. Следует внести поправку на растворимость соединения пролина с хлористым кадмием.

После выделения пролина остаток аминокислот обрабатывают н.-пропиловым спиртом, удаляют из экстракта растворитель и определяют содержание оксипролина по неаминному азоту остатка.

Г. ОСАЖДЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА РЕЙНЕКАТОМ АММОНИЯ (КАПФГАММЕР И ЭК [353], МИЛЛЕР [452])

Основы метода. После отделения аргинина осаждают пролин и оксипролин из слабокислого раствора посредством рейнеката аммония, тетрароданатодиаминохромата аммония:

$$NH_4[Cr(NH_3)_2(CNS)_4] \cdot H_2O.$$

Реактивы. Соль Рейнеке (Дэкин [189]). Нагревают 800 *г* (10,5 моля) NH_4CNS при 145—150° до частичного плавления и

прибавляют при размешивании порциями по 10—12 *г* смесь из 170 *г* (0,675 моля) $(NH_4)_2Cr_2O_7$ в порошке и 200 *г* (2,6 моля) NH_4CNS. Температура поднимается до 160°, и после введения 10 порций начинается энергичная реакция. Температуру поддерживают при 160°, постепенно добавляя смесь $(NH_4)_2Cr_2O_7$ — NH_4CNS. Затем продолжают размешивание, пока сплав не сделается лишь теплым наощупь, после чего добавляют 750 *мл* ледяной воды и через 15 мин. фильтруют. Осадок размешивают с 2,5 *л* воды при 65° и поддерживают температуру суспензии некоторое время при 60°. Фильтруют теплый раствор через подогретую воронку Бюхнера и оставляют на ночь кристаллизоваться в холодильнике. Маточник нагревают до 60° и используют для вторичной экстракции рейнеката из исходного осадка, оставшегося после первой водной экстракции. Выход — 50—57% от теории.

Метод. а) Отделение аргинина. Реакцию обесцвеченного гидролизата доводят по конго до слабокислой и осаждают аргинин в виде дифлавианата, прибавляя при комнатной температуре 3—4 моля водного раствора флавиановой кислоты (см. гл. I).

б) Осаждение пролина и оксипролина. Нагревают фильтрат после отделения дифлавианата аргинина до 60° и вводят избыток 8% теплого раствора рейнеката аммония. Оставляют на ночь при 4°, отделяют осадок и концентрируют фильтрат в вакууме более чем наполовину. Добавляют еще рейнеката при 60° и оставляют опять стоять для получения второй порции рейнекатов пролина и оксипролина. Осадок промывают на фильтре холодной водой и насухо отсасывают.

в) Разложение рейнекатов. Промытые осадки суспендируют в 50% метаноле и вносят избыток $CuSO_4$. Осадок отделяют и промывают. Из раствора удаляют избыток ионов хрома продуванием струи SO_2, родан-ионы — посредством Ag_2SO_4 и избыток Ag^+ и Cu^{++} — посредством H_2S. Раствор подщелачивают гидратом окиси бария, отгоняют аммиак в вакууме и удаляют Ba^{++} теоретическим количеством серной кислоты.

г) Разделение пролина и оксипролина. Выпаривают раствор аминокислот досуха и извлекают остаток абсолютным спиртом. Пролин растворим в холодном спирте, а оксипролин нерастворим. Каждая из этих аминокислот может быть определена по неаминному азоту в спиртовом растворе (пролин) и в остатке (оксипролин).

Растворимость пролина в абсолютном этиловом спирте равна 1,55 *г* в 100 *г* при 19°.

Рейнекат пролина $C_5H_9O_2N \cdot C_4H_7N_6S_4Cr$

Рейнекат оксипролина $C_5H_9O_3N \cdot C_4H_7N_6S_4Cr \cdot 3H_2O$

Примечание. Капфгаммер и Эк пишут [353], что рейнекатный метод не дает количественных результатов. Им удалось уловить 84% пролина и 79% оксипролина.

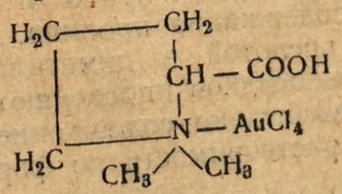
Дэкин и Вест [188] значительно упростили разложение рейнекатов. Метод их, который, вероятно, применим к разложению рейнекатов пролина и оксипролина, сводится к следующему: промытый и высушенный на воздухе осадок солей рейнекатов встряхивают с минимальным количеством метанола до растворения осадка. Раствор нагревают на водяной бане до 50° и прибавляют избыток диметиланилина. Смесь взбалтывают на машине в течение 30 мин. и разбавляют половинным объемом воды. Основная масса соли Рейнеке осаждается в виде диметиланилинрейнеката. Метанол удаляют выпариванием в вакууме, а избыток диметиланилина и остающуюся свободную кислоту Рейнеке извлекают повторно (4—5 раз) амиловым спиртом.

Д. ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА В ВИДЕ МЕДНОЙ СОЛИ (ТОУН [616], БРАЗЬЕ [129])

Основы метода. После удаления серной кислоты из гидролизата [366] аминокислоты переводят нагреванием их с $CuCO_3$ в медные соли. Раствор медных солей выпаривают до густого сиропа и тщательно сушат повторной обработкой ацетоном. Затем растертые в порошок медные соли экстрагируют 6 раз абсолютным метанолом на приборе для взбалтывания. Спиртовые экстракты отделяют и медь из них удаляют сероводородом. Раствор аминокислот упаривают досуха и пролин извлекают из сухого остатка абсолютным спиртом.

Е. ВЫДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА В ВИДЕ БЕТАИНА (ЭНГЕЛАНД [210, 211, 212, 53])

Основы метода. Исчерпывающе метилируют аминокислоты в белковом гидролизате при помощи CH_3I или $(CH_3)_2SO_4$ и 10% щелочи. Образовавшийся стахидрин осаждают с $HgCl_2$, осадок разлагают и бетаиновый остаток фракционируют абсолютным спиртом. Стахидрин выделяют из спиртового раствора в виде соединения с хлоридом платины или золота.



Ж. ВЫДЕЛЕНИЕ РОДАНИЛАТА ПРОЛИНА (БЕРГМАН [65, 70, 587])

Основы метода. Пролин дает относительно трудно растворимые соли с роданиловой кислотой, тетратиоцианат-дианилидохромовой кислотой, $H[Cr(CNS)_4(C_6H_5NH_2)_2]$ (ср. формулу соли Рейнеке).

Реактивы. Роданилат анилина. Нагревают на паровой бане в течение 4 час. смесь из 500 *г* хромоалюминиевых квасцов, 600 *г* KCNS и 500 *мл* воды. Охлаждают, приливают 500 *мл* анилина, затем держат 3 час. при 60°, снова охлаждают и выливают реакционную массу в смесь из 6000 *мл* воды и 600 *мл* уксусной кислоты. Через несколько часов отделяют осадок и экстрагируют его 1,5—2,0 *л* холодного метанола. Фильтруют и осаждают соль из раствора, выливая его в 6 *л* воды при непрерывном размешивании. Выпавший осадок отделяют и очищают, растворяя в метаноле и осаждая обратно водой. Выход 330 *г*; N — 17,1% (теор.).

Роданилат аммония. Растворяют 400 *г* анилиновой соли в смеси из 600 *мл* метанола и 300 *мл* концентрированного аммиака, охлаждают льдом и затем медленно приливают к холодному раствору 3 *л* воды. Для очистки осадка повторяют всю процедуру еще раз.

После этого аммонийную соль растворяют в холодном метаноле, добавляют животного угля и медленно выливают профильтрованный раствор в избыток ледяной воды. Промывают осадок ледяной водой и еще раз повторяют обработку углем. Осадок сушат в темноте при 0° на пористой пластинке. Соль следует хранить на холоду.

Метод. а) Очистка гидролизата. Гумины удаляют из гидролизата попутно при осаждении сероводородом гидрата окиси меди, добавляемого в раствор.

б) Осаждение пролина. Для каждого осаждения пользуются количеством гидролизата, эквивалентным 2,48 *г* желатины. Прибавляют порции по 275 *мл* осветленного желатинового гидролизата в разбавленной соляной кислоте в три раствора, содержащие соответственно 1,695, 2,001 и 2,301 *г* очищенного роданилата аммония в 175 *мл* холодного метанола. Оставляют смеси при 0° в течение 16 час., затем встряхивают на приборе 4 часа и опять оставляют стоять при 0° в течение 20 час. Осадки роданилата пролина отфильтровывают при 0° и не промывают.

в) Определение содержания пролина. Осадки разлагают разбавленной уксусной кислотой и диметиланилином. Количество пролина в каждом из осадков определяют по оптическому вращению растворов и вычисляют содержание его в белке на основании произведения растворимости по формуле:

$$(R^1 - X_a)(Y - y_a) = (R^2 - X_b)(Y - y_b),$$

где R^1 и R^2 — количества молей взятого роданилата аммония;
X_a и X_b — количества молей роданилата аммония, ушедшего в осадок.
y_a и y_b — количества молей роданилата пролина в осадке;
Y — мол. содержание пролина в X *мл* гидролизата.

Примечание. Первоначальный метод Бергмана [65] для определения пролина роданиловой кислотой не дал хороших результатов в руках многих компетентных исследователей. Вышеописанный общий способ является, очевидно, вполне удовлетворительным. Однако в опубликованных исследованиях определения по этому способу проведены лишь на небольшом числе белков.

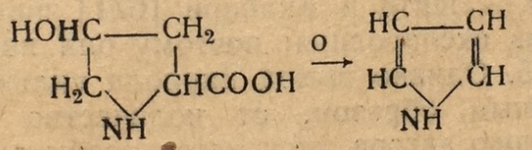
Инг и Бергман [315] описали микрометод определения пролина по роданилатному осадку; в той же статье приведена и примененная аппаратура (ср. гл. IX, раздел 2, подраздел 10).

Для каждого белкового гидролизата необходимо сперва установить оптимальные условия определения.

2. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА И ОКСИПРОЛИНА

А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКСИПРОЛИНА (ЛАНГ [400], ВАЛЬДШМИДТ—ЛЕЙТЦ [671])

Основы метода. Оксипролин можно окислить и декарбоксилировать до пиррола при помощи NaOCl. Пиррол конденсируют с изатином или *п*-диметиламинобензальдегидом в окрашенное соединение.



Реактивы. Гипохлорит натрия (Рашиг): в смесь из 80 *г* NaOH, 160 *мл* воды и 600 *г* льда пропускают струю хлора до поглощения 71 *г*. Раствор доводят до 1 *л* и хранят на холоду.

п-Диметиламинобензальдегид: растворяют 2,6 *г* в 100 *мл* этилового спирта.

Изатин: растворяют 100 *мг* в 200 *мл* концентрированной H_2SO_4.

Стандарт пиррола: растворяют 100 *мг* пиррола в 1 *л* 0,005 н. NaOH. Перед употреблением разводят в отношении 1 : 10.

Метод. а) Окисление. В охлажденный льдом раствор, содержащий 0,2—3,0 *мг* оксипролина, вводят 0,5 *мл* 10% Na_2CO_3 и 0,5 *мл* NaOCl на каждые 10 *мл* аминокислотного раствора. Через 2—3 мин. прибавляют по 1 *мл* 11,6% глютамината натрия. Отгоняют пиррол с паром; собирают первые 100 *мл* отгона.

б) Получение окраски. А. С *п*-диметиламинобензальдегидом. Определенный объем дестиллята с содержанием 0,01—0,1 *мг* пиррола разводят до 200 *мл* и прибавляют 1 *мл* раствора *п*-диметиламинобензальдегида и 1 *мл* 6 н. HCl. Дают окраске раз-

виться в течение 15 мин. при комнатной температуре (20—30°). Измеряют окраску со светофильтром 570 μ.

Б. С изатином. К 20 *мл* дестиллята с содержанием 0,05 до 0,3 *мг* пиррола добавляют 2 *мл* насыщенного водного раствора $HgCl_2$, центрифугируют осадок хлорида пиррол-ртути и промывают его двумя порциями этилового спирта по 5 *мл*, нагретого до 60°. После каждой промывки осадок следует охладить перед центрифугированием. Ртутный осадок растворяют в 2 *мл* воды с несколькими каплями 5% NaCl и 1 *мл* 6 н. HCl и разводят раствор до 10 или 25 *мл*. Берут отсюда для определения небольшой объем, добавляют 1 *мл* раствора изатина в H_2SO_4 и нагревают 10 мин. на водяной бане. Измеряют окраску в колориметре со светофильтром 570 μ.

Примечание. Ланг [400] первоначально считал, что окраска с *п*-диметиламинобензальдегидом вызывается пролином вместе с оксипролином, а окраска с изатином зависит от одного оксипролина. Вальдшмидт — Лейтц и Акабори [671] показали, что только оксипролин переходит при окислении с NaOCl в пиррол. Согласно их мнению, результаты Ланга объясняются тем, что в его пролиновом стандарте содержалось некоторое количество оксипролина.

Вальдшмидт — Лейтц и Акабори [671] получили в среднем 80% пиррола из оксипролина; поэтому они ввели поправочный коэфициент 1,25. Однако выход пиррола сильно зависит от условий и, главным образом, от количества применяющегося NaOCl. По мнению автора, этот метод требует дальнейшего изучения.

Кун и Денюэль [393] определяют количество пиррола в 1 *мл* дестиллята, добавляя в него 1 *мл* HCl (уд. в. 1,19) и 1 *мл* 2,5% спиртового раствора *п*-диметиламинобензальдегида. Конденсация происходит при 37° в течение 20 мин. Раствор охлаждают и объем его доводят до 20 *мл*. При измерении окраски пользуются светофильтром 530 μ.

Б. ОКИСЛЕНИЕ ОКСИПРОЛИНА ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА (МАКФАРЛАН И ГЕСТ [449])

Основы метода. Оксипролин окисляют H_2O_2 в пиррол, который определяют конденсацией его с изатином.

Метод. *а*) Окисление. К 1 *мл* нейтрализованного гидролизата с содержанием 0,4—1,6 *мг* оксипролина добавляют 1 *мл* 0,01 мол. $CuSO_4$, 1 *мл* 10% NaOH и 1 *мл* 6% H_2O_2. Встряхивают в течение 5 мин. и помещают в кипящую водяную баню на 5 мин. Охлаждают, вводят 1,5 *мл* 2 н. HCl и разбавляют до 10 *мл*.

б) Получение окраски. На 1 *мл* раствора пиррола берут 1 *мл* свежеприготовленного 0,01% изатина в воде и 1 *мл* 2 н. HCl. Смесь помещают в кипящую водяную баню ровно на 3 мин., затем оставляют стоять 5 мин. и охлаждают водой. Доводят

объем до 10 *мл* и измеряют окраску со светофильтром 520 μ, сравнивая ее с раствором контрольного опыта, приготовленным точно так же, как опытный раствор, за исключением нагревания после прибавления изатина.

Примечание. Гест и Макфарлан [268] нашли, что в присутствии 5 *мл* фосфатного буфера с pH 6,3 из 5 *мл* раствора (0,8 *мг* пиррола) можно осадить при помощи 5 *мл* насыщенного раствора сулемы 96—97% пиррола. Они также показали, что возможно определить количество от 0,005 до 0,030 *мг* пиррола в 1 *мл* раствора, если добавлять в него 0,2 *мл* 0,05% изатина в ледяной уксусной кислоте и 1 *мл* конц. HCl. Через 5 мин. стояния окрашенный раствор разводят до 10 *мл* спиртом и измеряют в колориметре с фильтром 660 μ.

В. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОЛИНА (ГЕСТ [269])

Основы метода. Пролин окисляют перекисью свинца в пиррол (?), который определяют, конденсируя его с *п*-диметиламинобензальдегидом.

Метод. *а*) Окисление. На 5 *мл* белкового гидролизата с содержанием от 2 до 10 *мг* пролина вводят 1/н.-NaOH до pH 8,7, затем 10 *мл* фосфатного буфера, pH = 8,7, и 1 *г* PbO_2. Суспензию кипятят с обратным холодильником 30 мин. Охлаждают, фильтруют и разбавляют фильтрат до 200 *мл*.

б) Определение. К 5 *мл* фильтрата после окисления добавляют 5 *мл* воды, 1 *мл* 5% раствора *п*-диметиламинобензальдегида в этаноле и 1 *мл* 2 н. HCl. Раствор нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 мин., через 5 мин. охлаждают окрашенный раствор водой и измеряют со светофильтром 520 μ.

Примечание. В этих условиях оксипролин дает примерно такую же интенсивность окраски. Этот метод, следовательно, пригоден для измерения приблизительного содержания суммы пролина и оксипролина.

Раздел 2

АНАЛИТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Как и раньше, все аналитические данные в нижеследующих таблицах рассчитаны, исходя из 16% азота. В большинстве случаев приводимые цифры не имеют значения абсолютных величин, а могут быть использованы лишь как общее указание на присутствие этих двух аминокислот в белковых гидролизатах.

Следует отметить сравнительно высокое содержание пролинов в желатине, зеине и глиадине, которые все относятся к неполноценным пищевым белкам.

Пролин и оксипролин в *животных белках*

Вычислено на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Пролин, %	Оксипролин, %
Альбуминоиды:				
Желатина	Энгеланд	Бастиан — 53	24—25	
Желатина	Бергман	Бергман — 65	18	<13
Желатина	Бергман	Бергман — 70	15,4	
Желатина	Дэкин	Дэкин — 185	8,5	<13
Желатина	Дэкин-Фюрт	Фюрт — 252	7,9	12,9
Желатина		Гордон — 261В	15,0	
Желатина		Кингстон — 365	19,5	8,6
Желатина	Ланг	Ланг — 400	9	13
Желатина	Макфарлен	Макфарлен — 449	—	13,0—13,5 *
Желатина	Бергман	Штейн — 587	15,3 ± 0,4 *	
Желатина	Ланг	Вальдшмидт — 671	—	9,4
Коллаген	Бергман	Бергман — 70	15,0	
Эластин	Энгеланд	Энгеланд—211	4	
Эластин	Бергман, Капфгаммер	Штейн — 586	14,2	1,9
Биологически активные вещества:				
Секретин		Агрен — 26	5	
Белки крови:				
Гемоглобин	Бергман	Бергман — 67	2	
Глобин	Ланг	Ланг — 400		0
Альбумин сывор.	Ланг	Ланг — 400		0
Глобулин сывор.	Ланг	Ланг — 400		0
Бенс-Джонс	Фишер	Абдергальден — 11	2	
Бенс-Джонс	Бергман	Девайн — 195	6,9	0
Бенс-Джонс	Фишер	Гопкинс — 308	3	
Белки яйца:				
Альбумин	Дэкин	Колвери — 139	4,3	
Альбумин	Фишер	Осборн — 497	4	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Пролин, %	Оксипролин, %
Вителлин	Фишер	Абдергальден — 13	3	
Ливетин	Капфгаммер	Джюкс — 348	2—3	
Кератины:				
Волос, лошад.	Фишер	Абдергальден — 9	4	
Волос коровьей шкуры	Бергман	Блок — 109	8,5	
Шерсть		Мартин — 437	6,4	
Шерсть	Фишер	Абдергальден — 16	4	
Шерсть	—	Гордон — 261В	9,3—6,8	
Перья	Фишер	Абдергальден — 9	4	
Рог	Фишер	Абдергальден — 16	4	
Рог	Фишер	Фишер — 224	4	
Перепонка яичн.	Фишер	Абдергальден — 14	4	
Перепонка яичн.	Дэкин	Колвери — 142	3,7	
Спонгин	Фишер	Абдергальден — 12	6	
Спонгин	Фишер	Кланси — 163	6	
Акула	Фишер	Прегль — 529	5	
Фиброин шелка	Фишер	Абдергальден — 20	1	
Белки молока:				
Казеин	Дэкин-Ван-Сляйк	Дэкин — 183	7—9	
Казеин	Энгеланд	Энгеланд — 210	7	
Казеин	Фишер-Ван-Сляйк	Форeман — 240	7,8	
Казеин	Дэкин-Фюрт	Фюрт — 252	5,9	2,2
Казеин	Гест	Гест — 269	8,2	—
Казеин	Макфарлен	Макфарлен — 449		0
Казеин	Фишер	Осборн — 502	5	
Казеин	Фишер-Ван-Сляйк	Ван-Сляйк — 629	7,0	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Пролин, %	Оксипролин, %
Казеин	Ланг	Вальдшмидт — 671	—	0
Лактальбумин	Фишер	Джонс — 340	4	
Разные белки:				
Протамин	Бразье	Хироката — 299	<10	
Протамин	Ланг	Вальдшмидт — 671	—	0
Почка	Ланг	Ланг — 400	—	0
Белки мышцы:				
Треска	Капфгаммер	Абдергальден — 24	3	1
Рыба	Фишер	Осборн — 493	3	
Сельдь		Вакамату — 669	> 3	
Животное	Ланг	Ланг — 400	—	0
Цыпленок	Фишер	Осборн — 493	5	
Бык	Фишер	Осборн — 498	6	
Миозин	Фишер	Шарп — 575	< 1	

Пролин и оксипролин в *растительных белках*

Высчитано на 16% азота

Источник	Метод	Ссылка	Пролин, %	Оксипролин, %
Автотропные растения:				
Морские водоросли	Бергман, Капфгаммер	Мэзур — 442	9—10	2—6
Биол. активные белки:				
Грамицидин	Бергман	Кристенсен — 162	0	0
Тироцидин	Бергман	Кристенсен — 162	0	0
Тироцидин	Хроматограф.	Гордон — 261Е	7,7—8,5	
Табачный вирус	Бергман	Росс — 556	4,7	
Табачный вирус	Бергман	Росс — 577	5,5	

Продолжение

Источник	Метод	Ссылка	Пролин, %	Оксипролин, %
Рицин	Фишер	Каррер — 355	4	0
Желтый фермент	Ван-Сляйк, Ланг	Кун — 393	6,4	0
Белки кукурузы:				
Зеин	Бразье	Бразье — 129	8,9	
Зеин	Дэкин-Ван-Сляйк	Дэкин — 186	9—12	0
Зеин	Дэкин-Ван-Сляйк	Фюрт — 252	8,2	0,8
Зеин	Фишер	Осборн — 490	7	
Зеин	Фишер	Осборн — 499	9	
Глютенин	Фишер	Осборн — 490	5	
Разные белки:				
Арахин	Фишер	Джонс — 322	<2	
Глобулин хлопк. семян	Фишер	Абдергальден — 1	2	
Глобулин кокосового ореха	Дэкин	Джонс — 334	5	
Эдестин	Фишер	Абдергальден — 1	2	
Эдестин		Гордон — 261	5,4	
Эдестин	Фишер	Осборн — 500	4	
Трава	Капфгаммер	Миллер — 452	2,5	
Гордеин	Фишер	Клейншмит-369	6	
Мука лупиновая		Гейнрих — 285	4	
Плесень	Бразье	Уллей — 689	2	
Мука соевых бобов	Гейнрих	Гейнрих — 286	5	
Глобулин подсолнечн. семян	Фишер	Абдергальден — 8	3	
Белки пшеницы:				
Глиадин	Фишер	Абдергальден — 7	2	
Глиадин	Фишер	Осборн — 489	7	
Глиадин	Фишер	Осборн — 503	12	
Глютин	Энгеланд	Энгеланд — 211	10	
Глютин	—	Падоа — 508	8	
Глютенин	Фишер	Осборн — 489	4	

Глава IX

ОБЩИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ

Раздел 1

ГИДРОЛИЗ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. ГИДРОЛИЗ

Опыт показал, что исходный гидролиз белков до аминокислот является одним из серьезных препятствий при проведении анализа. За исключением спектрографических методов для ароматических аминокислот (см. гл. II) и некоторых реакций на цистин (см. гл. III), имеется лишь один общий принцип исследования белков без предварительного гидролиза, при помощи которого можно будет достигнуть достаточной точности. Это наблюдение Бидла и Татума [60], нашедших, что под влиянием рентгеновских лучей возможно вывести определенные штаммы neurospora, которые нормально развиваются на полноценной питательной среде, но почти не растут, если в среде нехватает одного ингредиента. Удалось среди 2000 выведенных штаммов выбрать три таких мутанта. Один из них не обладал способностью синтезировать пиридоксин, другой — тиамин, а третий не был в состоянии обойтись без добавления n-аминобензойной кислоты. Если бы удалось вывести подобные штаммы из этого или другого вида микроорганизмов, которые реагировали бы таким же образом на определенные аминокислоты в неизмененной белковой молекуле, то открылся бы путь для создания нового метода анализа.

В настоящее время протеолитические ферменты являются наиболее активными каталитическими агентами гидролиза белков, но они обладают рядом недостатков: а) гидролиз редко идет до конца; б) благодаря термолабильности протеолитических ферментов температура реакции должна поддерживаться при 80° С или ниже, в) сами ферменты являются белками; так как они подвергаются частичному автолизу, то через них в гидролизат вводят аминокислоты, которые затем определяются как составные части исследуемого белка. Поэтому чаще пользуются сильно диссоциирующими кислотами и щелочами. Нужная концентрация их до известной степени зависит от белка, подлежащего гидролизу, но она всегда обратно пропорциональна времени и температуре гидролиза. Применяют 5—20-кратный объем кислоты или щелочи по сравнению с весом взятого белка. При атмосферном давлении всего употребительнее следующие

концентрации:

HCl от 3 до 12 н.	обычно	6 н.
H_2SO_4 от 4 до 8 н.	«	8 н.
HI	«	57%
NaOH	«	5 н.
$Ba(OH)_2$	«	14%

Если поднять давление, то можно уменьшить продолжительность реакции или снизить концентрацию реагента. Например, при 9 *кг* давления достаточно 20 объемов 4% H_2SO_4 в течение 10 час., тогда как при атмосферном давлении нужно нагревать 20 час. с 10 объемами 40% H_2SO_4. Джильсон и др. [257] установили, что для полного гидролиза 100 *г* казеина нужно нагревать со 150 *г* щавелевой кислоты и 300 *мл* воды в течение 40 час. при давлении в 6,8 *кг*.

Штейнгарт и Фюджит [589] считают, что некоторые органические кислоты, как цетилсульфоновая, додецилсульфоновая, додецилсерная, полуэфир н.-тетрадецилсульфата и т. д., являются более активными катализаторами при гидролизе амидных и пептидных связей, чем обычно применяемые минеральные кислоты. Насколько известно автору, этот интересный факт до сих пор не использован при анализе белков. Штейнгарт и Фюджит [589] применяли для гидролиза примерно 100 *г* 0,02—0,15 мол. кислоты на 1 *г* белка. Температура в их опытах колебалась между 65 и 75°.

Обыкновенно приходится освобождаться от избытка взятого для гидролиза реагента. Серную кислоту чаще всего осаждают баритом или гидратом окиси кальция, соляную кислоту отгоняют в вакууме с последующим осаждением не улетучившейся части окисью серебра или, лучше, закисью меди. Для HI применяют также окись серебра или хлористое серебро; $Ba(OH)_2$ удаляют при помощи серной кислоты или CO_2. Блок [107] установил, что можно удалить избыток минеральной кислоты, применяя синтетические смолы, обменивающие анион («деацидит», «амберлит IR — 4»), без всякой потери аминокислот.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛНОТЫ ГИДРОЛИЗА

Основы метода. Целью гидролиза белков является освобождение карбоксильных и аминных групп из пептидных связей. Считается, что гидролиз прошел до конца, когда освободится максимальное количество —COOH и —NH_2-групп. Карбоксильные группы могут быть легко определены при помощи одного из вариантов формольного титрования по Шифф-Сёренсену (см. Шмидт [569], стр. 189 до 198); аминные группы определяются по методу Ван-Сляйка (см. Шмидт [569], стр. 198—203).

А. МЕТОД ТИТРОВАНИЯ АМИННЫХ ГРУПП ПО ПОПУ И СТИВЕНСУ [525]

Основы метода. Аминокислоты образуют растворимые медные соли. В фильтрате определяется иодометрически содержание меди и, следовательно, содержание азота аминогрупп.

Реактивы. $CuCl_2$: 27,3 *г* на 1 *л* (0,16 мол.).

Фосфат натрия (нейтр.): растворяют 64,5 *г* Na_2HPO_4 в 500 *мл* воды, не содержащей CO_2. Добавляют 7,2 *г* NaOH и разводят раствор до 1000 *мл*.

Боратный буфер: растворяют 57,21 *г* бората натрия в 1500 *мл* воды, добавляют 100 *мл* 1 н. HCl и воды до 2 *л*.

Суспензия $Cu_3(PO_4)_2$: смешивают 1 объем раствора $CuCl_2$ и 2 объема Na_3PO_4, затем добавляют 2 объема боратного буфера. Реактив готовят свежим на несколько дней.

Тимолфталеин: 250 *мг* в 100 *мл* 50% этилового спирта.

Гипосульфит натрия: растворяют 49,6 *г* $Na_2S_2O_3$ в 200 *мл* воды, не содержащей CO_2, и разводят до 2000 *мл*; добавляют 0,1% боратного буфера; перед употреблением разводят водой до 0,01 н. концентрации. Вода для разведения содержит немного боратного буфера.

KIO_3: растворяют 356,75 *мг* сухого KIO_3 в 1 *л* воды.

Крахмал: готовят 0,1% раствор крахмала; доводят реакцию до pH 7,0.

Метод. На 1—5 *мл* раствора аминокислот добавляют 4 капли индикатора и 1 н. NaOH до слабой голубой окраски. Затем вносят при помешивании 30 *мл* суспензии $Cu_3(PO_4)_2$. Разбавляют до 50 *мл* и фильтруют.

На 10 *мл* фильтрата добавляют 0,5 *мл* уксусной кислоты и 1 *г* KI. Титруют выделившийся иод 0,01 н. $Na_2S_2O_3$ по крахмалу.

1 *мл* 0,01 н. $Na_2S_2O_3 \approx 0,28$ *мг* аминного азота.

3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Методы приготовления образцов белка для анализа уже упоминались вкратце выше. Основы метода очень просты. Белок должен содержать как можно меньше посторонних примесей, особенно углеводов и жиров.

Удаление жиров обычно не составляет больших трудностей, так как последовательной экстракцией ацетоном, горячим спиртом, горячим бензолом и безводным эфиром почти всегда удается снизить остаток липоидов до незначительных размеров.

Наоборот, удаление углеводов и родственных им соединений, особенно из растительных белков, без изменения состава этих белков достигается обычно с трудом, а иногда это и невозможно. Например, при анализе общего белка в зернах злаков значительная часть углеводов может быть удалена при помощи амилолитических ферментов или же белок может быть

переведен в растворимое состояние и отделен от углеводов при помощи горячей разбавленной минеральной кислоты (4% HCl) или путем расщепления протеолитическими ферментами.

Для отделения растворимых белков от неорганических солей и т. д. часто пользуются тепловой коагуляцией. Считают, что аминокислотный состав коагулированного белка идентичен с составом его в природном состоянии. Однако Колвери, Герриот и Нортруп [146] показали, что аминокислотный состав пепсина и полученного из него при нагревании свернутого белка не одинаковы. Кизель и Кузьмин [363] пришли к таким же выводам при исследовании состава коагулированного и неизмененного эдестина. Значение этих фактов очевидно.

Чибнэл, Рис и Вильямс [157A] указывают на то, что некоторые белки в безводном состоянии настолько гигроскопичны, что требуют особых приемов при обращении. Поэтому определение азота и влажности следует проводить на раздельных образцах белков, высушенных на воздухе.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА

Чибнэл, Рис и Вильямс [157A] еще раз подтвердили выводы более ранних исследователей (Осборн, Сёренсен и др.), что при определении азота по Кьельдалю в белках и белковых гидролизатах (особенно при большом содержании лизина и гистидина) озоление следует продолжать еще 8 час. после получения бесцветных растворов даже в том случае, если применялись катализаторы и малые количества вещества. Это правило редко соблюдается.

Раздел 2
РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ

1. ФРАКЦИОНИРОВАННАЯ ПЕРЕГОНКА ЭФИРОВ АМИНОКИСЛОТ (ФИШЕР [219])

Основы метода. В 1901 г. Эмиль Фишер показал, что этиловые эфиры аминокислот можно разделить фракционированной разгонкой в вакууме. Этот способ был разработан им на основе наблюдения Курциуса, который в 1883 г. нашел, что этиловый эфир гликоколя перегоняется без разложения.

Метод. Здесь не описаны детали метода, который подробно изложен в «Биохимии аминокислот» Митчеля и Гамильтона [462], в «Химии аминокислот и белков» Шмидта [569] (стр. 138—146), а также в других руководствах по белкам.

Метод этерификации аминокислот Осборна и сотрудников основан на опытах Фелпса и Фелпса [517]. Последние перегоняли органические кислоты с абсолютным спиртом, содержащим 1,25% HCl и 1% $ZnCl_2$, пропуская через прибор струю

газообразного абсолютного спирта. Скорость отгонки и притока спирта была отрегулирована таким образом, чтобы объем в колбе для этерификации не изменялся. Этерификация повторялась два или три раза.

Для уменьшения гидролиза эфиров при удалении HCl щелочью Фореман [240] применял следующий способ, основанный на наблюдениях Зелинского и др. [696]. После удаления дикарбоновых аминокислот при помощи $Ca(OH)_2$ и спирта получают свинцовые соли аминокислот нагреванием гидролизата с избытком свинцового глета. Свинцовые соли сушат, суспендируют в абсолютном этиловом спирте и насыщают суспензию газообразным HCl. Осадок $PbCl_2$ отделяют и промывают этиловым спиртом, спиртовой фильтрат нейтрализуют до (приблизительно) pH 6 спиртовым раствором аммиака. Отделяют осадок NH_4Cl, промывают его спиртом и отгоняют спирт. Остаток растворяют в сухом хлороформе; если дополнительно выпадает NH_4Cl, его отфильтровывают. Связанный HCl удаляют из эфиров при помощи сухого $Ba(OH)_2$ при низкой температуре. Осадок $BaCl_2$ отфильтровывают, промывают $CHCl_3$ и после отгонки хлороформа разгоняют эфиры аминокислот в вакууме.

Шербюлье и др. [156] ацетилировали эфиры аминокислот избытком уксусного ангидрида в присутствии ацетата натрия перед фракционированной разгонкой, а Гурин [273] перегонял н.-ацилированные эфиры аминокислот в высоком вакууме при 10^{-6}—10^{-7} *мм*. Для ацилирования аминокислот употреблялся бензолсульфохлорид в щелочном растворе.

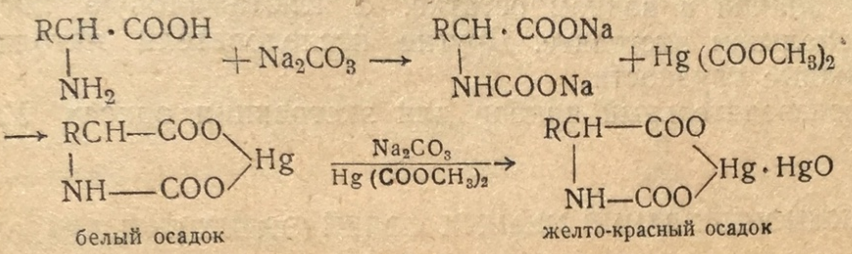
Примечание. Осборн и Джонс [501] сделали в 1910 г. следующее замечание: «Большие надежды, вызванные введением нового аналитического метода Эмиля Фишера, привели к выводу, что в скором времени мы выясним все составные части белков... Ясно..., что наступило разочарование». Опыты, поставленные ими на смесях аминокислот, дали в случае серина выход 0, для лейцина — 88% и средний выход в 60%. Невозможность выделить обратно серин объясняется, может быть, тем, что, как показали Джонс и Джонс [322], сериновый эфир не извлекается эфиром в присутствии $BaCl_2$ и $Ba(OH)_2$.

2. ИСЧЕРПЫВАЮЩЕЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ (ЭНГЕЛАНД [210, 211])

Метод применялся только для выделения пролина и аспарагиновой кислоты. Он описан в главах, посвященных этим аминокислотам.

3. ОСАЖДЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ВИДЕ РТУТНЫХ КАРБАМАТОВ (НЕЙБЕРГ И КЕРБ [473])

Основы метода. Все аминокислоты, за исключением пролина и валина, образуют с ацетатом ртути в присутствии Na_2CO_3 и спирта нерастворимые соли.



Метод. К раствору аминокислот добавляют поочередно при размешивании 25% раствор ацетата ртути в воде или этаноле с несколькими каплями уксусной кислоты и 10% водный раствор Na_2CO_3 до прекращения образования белого осадка. Дают еще небольшой избыток реактивов, и осадок принимает желто-красный оттенок. Осаждают ртутные соли из раствора 5—8 объемами спирта. Осадок промывают 80% этиловым спиртом и выделяют из него аминокислоты обычным способом при помощи H_2S.

Примечание. Уллей и Петерсен [689] нашли, что реактив Нейберг — Керба не осаждает всех аминокислот и что происходят потери вследствие адсорбции (?) на осадке HgS.

4. ОКИСЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ НИНГИДРИНОМ (РУЭМАН [559])

Основы метода. Все встречающиеся в природе α-аминокислоты, за исключением гликоколя, дезаминируются и декарбоксилируются при нагревании с водным раствором нингидрина (трикетогидринденгидрата) (Руэман [559]) в разбавленной кислоте; при этом образуются NH_3, CO_2 и соответствующий низший альдегид. Этой реакцией воспользовались Ван-Сляйк и др. [636, 637, 638] для определения лизина в осадке фосфорновольфрамовой кислоты (см. гл. I); также для определения глютаминовой и аспарагиновой кислот в смесях (см. гл. VI); Виртанен и др. [662, 663] использовали эту реакцию для определения аланина (см. гл. VII).

5. ЭКСТРАКЦИЯ МОНОАМИНО-МОНОКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ БУТИЛОВЫМ СПИРТОМ (ДЭКИН [183, 185])

Основы метода. Дэкин [183, 185] установил, что моноаминомонокарбоновые кислоты можно извлечь из концентрированных водных растворов нейтральной реакции при помощи нагре-

тых бутилового и изопропилового спиртов. Подробности этого метода описаны у Шмидта [569] (стр. 142—146, ср. 506).

Примечание. Этот многообещающий метод оказался неподходящим для количественного отделения моноаминокислот от диамино и дикарбоновых аминокислот. Джонс и Джонс [334] нашли аланин в водном остатке, а глютаминовую кислоту — в бутанольном экстракте. Другие исследователи натолкнулись на сходные трудности.

Производительный прибор для экстракции описан Уллейем [690].

6. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ МЕДНЫХ СОЛЕЙ (ЭРЛИХ [207], БРАЗЬЕ [129])

Основы метода. Медные соли аминокислот получают нагреванием белкового гидролизата до кипения с избытком $Cu(OH)_2$ или $CuCO_3$. Раствор выпаривают до густого сиропа и медные соли сушат с помощью ацетона. Затем разделяют их на три группы, проводя последовательно экстракцию разными растворителями.

1) Валин, оксивалин (?), пролин, изолейцин, немного лейцина и тирозина растворяются в сухом метаноле.

2) Аланин, тирозин, глютаминовая кислота, гистидин, аргинин, лизин и глицин в виде медных солей не растворимы в безводном метаноле, но растворимы в воде.

3) Медные соли лейцина, фенилаланина и аспарагиновой кислоты не растворимы в холодной воде и в сухом метаноле.

7. ОСАЖДЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ВИДЕ КАРБАМАТОВ БАРИЯ (КИНГСТОН И ШРАЙВЕР [365, 570, 571])

Основы метода. При введении в холодный раствор аминокислот $Ba(OH)_2$ и CO_2 образуются карбаматы бария. Они могут быть осаждены добавлением 2—3 объемов этилового спирта. Все карбаматы аминокислот, за исключением карбамата гликоколя, растворимы в холодной воде.

8. ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ КАРБАМИДОВ АМИНОКИСЛОТ (БОЙД [118])

Основы метода. Для получения карбамидов аминокислот кипятят нейтральный раствор аминокислот с избытком KOCN с обратным холодильником. Реакцию раствора доводят серной кислотой до pH 4 и отделяют нерастворимые карбамиды лейцина, изолейцина и фенилаланина. Карбамидные производные моноамино-монокарбоновых кислот растворимы в 80% спирте.

9. РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ПОМОЩИ БЕЗВОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (ПШИЛЕЦКИЙ И КАСПШИК [531])

Основы метода. Белковый гидролизат освобождают от всех неорганических ионов и упаривают досуха. Авторы метода считают, что основные аминокислоты растворимы в безводной масляной и капроновой кислотах, что гликоколь, аланин, валин, лейцин, фенилаланин, пролин и оксипролин растворимы в 99—99,5% уксусной и пропионовой кислотах, тогда как тирозин, цистин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты в них нерастворимы.

Примечание. Опыты автора по проверке этого метода не дали благоприятных результатов.

* 10. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ ПО ПРОИЗВЕДЕНИЮ РАСТВОРИМОСТИ ИХ СОЛЕЙ (БЕРГМАН И ДР. [70, 315, 197, 588, 465 А])

Основы метода. Произведение растворимости соли аминокислоты есть величина постоянная. Основное требование метода растворимости состоит в том, чтобы белковый гидролизат и осаждающий реактив размешивались и фильтровались при постоянной температуре.

Прибор: см. рис. 4.

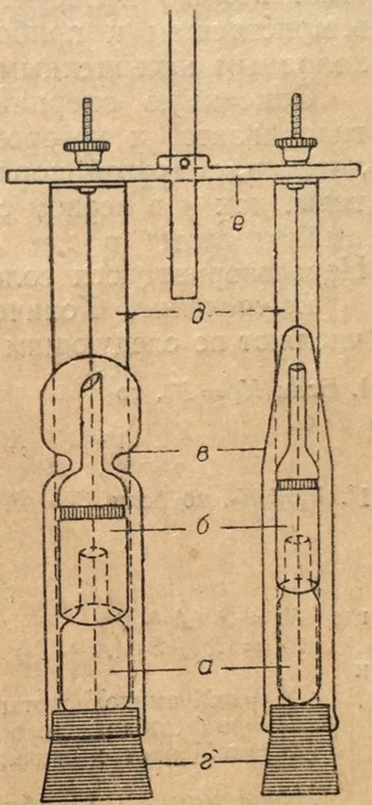


Рис. 4. Два прибора для определения содержания аминокислот в белке: *а* — маленькая колбочка; *б* — опрокинутая над ней воронка со стеклянной пористой пластинкой; *в* — центрифужная пробирка; *г* — плотно подогнанная резиновая пробка; *д* — латунные держатели, присоединенные к металлическому диску *е*.

Метод (Инг и Бергман [315]). Реакционная смесь наливается в сосудик *а*, который покрыт воронкой из пористого стекла *б*. Сосудик и воронка заранее взвешиваются. Весь приборчик помещается в центрифужную пробирку *в*, плотно закрытую резиновой пробкой *г*.

Прибор встряхивается 24 или 48 час. в ледяной воде, после чего осадок переводится на фильтр переворачиванием прибора и центрифугируется при 2500—3000 оборотах в минуту в течение 5—10 мин. В продолжение всей операции пробирка должна находиться при 0°.

* Рекомендуемый метод [25].

ов и упаривают досуха. Авторы метода счи-
аминокислоты растворимы в безводной ма-
ой кислотах, что гликоколь, аланин, валин,
ин, пролин и окси-
в 99—99,5% уксус-
й кислотах, тогда
н, аспарагиновая и
оты в них нерас-

ыты автора по про-
да не дали благо-
тов.

АМИНОКИСЛОТ ПО
РАСТВОРИМОСТИ ИХ
И ДР. [70, 315, 197, 588,
5 А])

. Произведение рас-
аминокислоты есть
ная. Основное тре-
астворимости состоит
ковый гидролизат и
ктив размешивались
ь при постоянной

ис. 4.
и Бергман [315]).
сь наливается в со-
й покрыт воронкой
кла *б*. Сосудик и во-
взвешиваются. Весь
дается в центрифуж-
в, плотно закрытую
й *г*.
живается 24 или 48 час.
, после чего осадок
фильтр переворачива-
центрифугируется при
отах в минуту в тече-

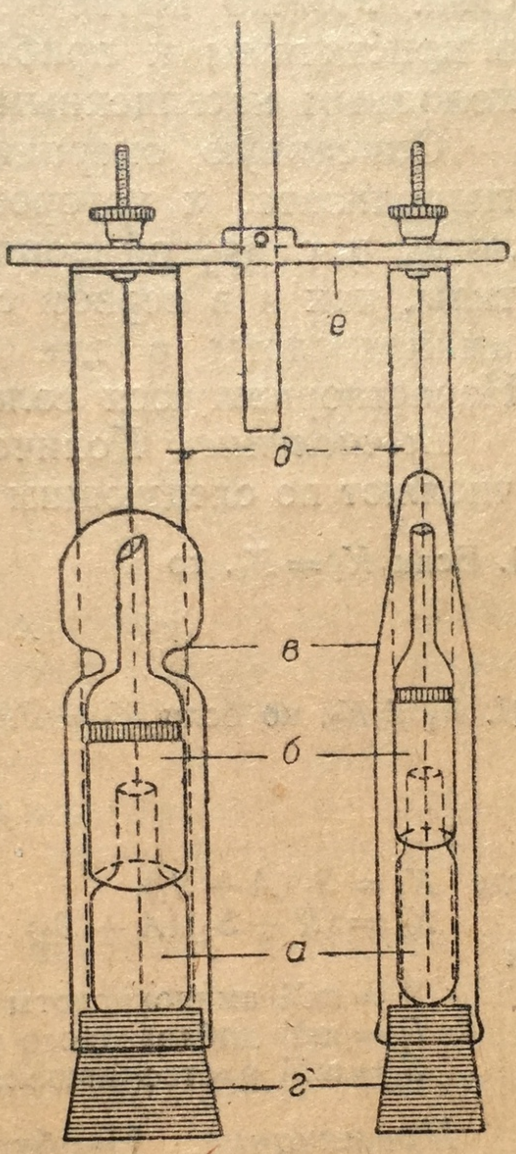


Рис. 4. Два прибора для определения содержания аминокислот в белке: *а* — маленькая колбочка; *б* — опрокинутая над ней воронка со стеклянной пористой пластинкой; *в* — центрифужная пробирка; *г* — плотно подогнанная резиновая пробка; *д* — латунные держатели, присоединенные к металлическому диску *е*.

3 продолжение всей операции пробирка должна
0°.

ый метод [25].

После центрифугирования сосудик и воронку вынимают, тщательно вытирают и сразу взвешивают. Затем сушат их до постоянного веса в эксикаторе. Потеря в весе при сушке дает возможность сделать поправку на сухой остаток, содержащийся в маточном растворе на стенках прибора и на осадке. Содержание сухого остатка в исходном растворе должно быть известно. Можно проверить вводимую поправку на сухой остаток в приставшем к прибору маточнике, промывая осадок при 0° холодным насыщенным раствором соли чистой аминокислоты.

Описанную операцию проводят с определенным объемом гидролизата, к которому добавляется избыток соли аминокислоты, и с другой порцией гидролизата, содержащей все реактивы, как и в первом случае, но перед добавлением к ней соли аминокислоты в нее вводят R молей осаждающего реактива. Нерастворившуюся соль аминокислоты отделяют и взвешивают.

Вычисление. Количество аминокислоты в гидролизате вычисляют по следующим уравнениям:

I. Если $K_1 = K_2$, то

$$A = \frac{S^2 - S_2(R + S_2)}{(R + S_2) - S_1}.$$

II. $K_1 \neq K_2$, но если $K_1 = FK_2$, то

$$A = \frac{S_1^2 - FS_2(R + S_2)}{F(R + S_2) - S_1},$$

где $K_1 = S_1(A + S_1)$,
$K_2 = (R + S_2)(A + S_2)$

и

A = mM аминокислоты в образце,
R = mM добавленного реактива,
S = mM растворившейся соли.

Примечание. Необходимо до опыта убедиться в том, что осаждающий реактив не образует в данных условиях осадков с другими аминокислотами. Растворимость неприродных и рацемических форм солей аминокислот отличается от растворимости естественных форм. Отсюда возникает новое осложнение метода.

* 11. МЕТОД РАЗВЕДЕНИЯ ИЗОТОПОВ (УССИНГ [626], РИТТЕНБЕРГ И ФОСТЕР [547]

Основы метода. Соединение, в состав которого входит не встречающийся в природе изотоп, не может быть отделено от своего обычного аналога при помощи общепринятых лабораторных методов.

* Рекомендуемый метод.

Можно определить содержание аминокислоты в белковом гидролизате по следующей формуле:

$$Y = \left(\frac{C_0}{C} - 1\right) X,$$

где Y — аминокислота в белковом гидролизате,
X — добавленная аминокислота, содержащая C_0 процентов изотопа, и
C — содержание изотопа в выделенной аминокислоте.
C_0/C должно быть между 5 и 10.

Оптические изомеры обычно имеют растворимость, отличающуюся от растворимости рацемических соединений или смесей. Отсюда вытекает необходимость полностью рацемизировать аминокислоты гидролизата или же, наоборот, рацемическая синтетическая аминокислота, содержащая изотоп, должна быть разложена на активные компоненты и для опыта взят естественный изомер. Можно, наконец, вводить в гидролизат рацемический изотоп и выделять из смеси только естественный изомер.

В этом методе ошибки могут происходить от загрязнения прибавляемых компонентов, от загрязнений выделяемых аминокислот и от неточности определения изотопов. Эти неточности при квалифицированном проведении опыта очень малы. Степень чистоты аминокислот, вводимых и выделяемых из гидролизата, может быть испытана повторной перекристаллизацией и новым определением изотопов.

Примечание. Этот метод является, вероятно, наиболее точным способом определения аминокислот в белковых гидролизатах. Его применение ограничивается трудно доступной сложной и дорогой аппаратурой и необходимостью иметь синтетические аминокислоты, содержащие изотопы.

12. РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ АДСОРБЦИЕЙ

А. РАЗДЕЛЕНИЕ НА АКТИВИРОВАННОМ УГЛЕ (ТИЗЕЛИУС [609, 610, 611, ср. 667])

Основы метода. Если водный 0,5% раствор аминокислот медленно пропускать снизу вверх через слой активированного угля в 0,1 мол. NaCl, то растворенные вещества будут более или менее отставать от растворителя. Степень отставания будет определяться степенью адсорбции данного вещества. Можно измерять концентрацию аминокислоты в вытекающей жидкости по рефракции и разделять по этому принципу смеси аминокислот.

Б. РАЗДЕЛЕНИЕ НА АКТИВИРОВАННОЙ ОКИСИ ТИТАНА (СТРЕЙН [594])

Основы метода. Активированная окись титана, полученная из $TiCl_4$ и K_2CO_3, адсорбирует глютаминовую кислоту при pH 3,2 и гистидин при pH 10.

В. РАЗДЕЛЕНИЕ ПОЛИАМИНОКИСЛОТ И ПОЛИКАРБОНОВЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ПОМОЩИ ИОННЫХ ОБМЕНИВАТЕЛЕЙ (БЛОК [107], КЭННАН [148])

Основы метода. Удаляют из гидролизата диаминокислоты, обрабатывая раствор синтетическими катионными обменивателями, как, например, сульфированные смолы («амберлит IR — 1» и «IR — 100») или сульфированный уголь Цеокарб (см. гл. I).

Для выделения дикарбоновых аминокислот из гидролизатов, не содержащих катионов, можно пользоваться веществами, обменивающими анион: «амберлит IR — 4» или «де-ацидит» (см. гл. VI).

Метод. а) Полиаминокислоты. Если пропустить гидролизат, не содержащий аммиака, быстрым током через вещества, обменивающие катион, как, например, смолы «амберлит IR — 1» или «IR — 100» или сульфированный уголь («Цеокарб»), то аргинин, гистидин и лизин количественно удаляются из раствора и реакция последнего часто становится кислой. Оставшиеся в колонке моно- и дикарбоновые аминокислоты удаляют, тщательно промывая колонку водой, не содержащей катионов.

Лизин элюируют 1,5 до 2,5% H_2SO_4. При этом выделяется также часть адсорбированных аргинина и гистидина.

Гистидин выводят из колонки путем обменной реакции ионов с 1% NH_4OH. Аммиак, в свою очередь, элюируют 1% HCl и, наконец, остающийся аргинин извлекают из твердого вещества при помощи 7% HCl или 5% H_2SO_4.

б) Дикарбоновые аминокислоты. Не содержащий катионов гидролизат пропускают через колонку с синтетическим цеолитом, обменивающим анион, например, «де-ацидит» или «амберлит IR — 4». Колонка основательно промывается водой, не содержащей анионов; глютаминовую и аспарагиновую кислоты элюируют количественно обменной реакцией с 5% HCl, 4% H_2SO_4 или 2% Na_2CO_3. Раствор HCl или H_2SO_4 пропускают повторно через колонку из «IR — 4», пока реакция вытекающей жидкости не будет ниже pH 1; затем проводят элюирование содой до получения pH 8,2 или выше.

В противоположность методу кислой элюции, применяемой для выделения полиаминокислот, метод ионного обмена с дикарбоновыми кислотами, как это следует из теоретических соображений, дает количественный выход.

в) Моноамино-монокарбоновые кислоты. После обменных реакций с катионами и анионами жидкость, выходя-

щая из колонки, содержит моноамино-монокарбоновые кислоты. Этот бесцветный раствор очень удобен для определения моноаминокислот методами, описанными в этой книге, а также для препаративного получения их обычными стандартными способами.

г. РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ (ГОРДЕН, МАРТИН И САЙНДЖ [261, 261А, 261В, 261С, 261D, 439] И КАТЧ, КУК И ГЕЙЛЬБРОН [150])

Основы метода. Раствор ацетилированных аминокислот хроматографируют из органического растворителя ($CHCl_3$, C_4H_9OH и т. д.) через колонку, состоящую из водозадерживающего носителя, например активированного силикагеля или «гифло-суперцела». Колонка насыщена связанной водой (Мартин) или неорганическим основанием, гидроокисью или карбонатом в случае кислых аминокислот или слабой неорганической кислотой, $NaHSO_4$ для экстракции диаминокислот (Катч).

Реактивы. Приготовление силикагеля [261А]. Продажное жидкое стекло разводят 3 объемами дестиллированной воды, содержащей немного метилоранжа. При сильном размешивании вводят тонкой струей 10 н. HCl; временами прерывают приливание, продолжая размешивать для лучшего распределения кислоты. Раствор сперва медленно, а потом быстро превращается в густую массу, в которой все комочки разбиваются размешиванием. Когда смесь приобретает устойчивую кислую реакцию по тимолсинему, прекращают прибавление соляной кислоты и оставляют массу в покое в течение 3 час. Затем фильтруют на воронке Бюхнера и промывают дестиллированной водой (приблизительно 2 *л* на 250 *г* сухого геля), не давая студню трескаться. Промытый гель суспендируют в 0,2 н. HCl и оставляют его для старения на 2 дня при комнатной температуре. Затем его опять отфильтровывают и промывают дестиллированной водой до исчезновения окраски метилоранжа. Под конец гель разламывают на кусочки и сушат при 110° в сушильном шкафу. Такой препарат при добавлении 53% по весу воды, насыщенной метилоранжем, или 0,05% водного раствора хлорида пеларгонина должен давать удовлетворительные результаты.

Метод. а) Приготовление колонки [439, 261А]. Суспендируют 3 *г* силикагеля, насыщенного метилоранжем, в 3% растворе н.-бутилового спирта в хлороформе (3 *мл* бутанола в 100 *мл* $CHCl_3$). Суспензию вводят в хроматографическую трубку с внутренним диаметром в 1 *см* и длиной в 30 *см*. Дно трубки закрыто двойным слоем фильтровальной бумаги или сетчатым серебряным диском. Дают растворителю стечь, но закрывают колонку сверху пробкой, чтобы помешать доступу воздуха. Вытекающий растворитель почти не содержит индикатора, так как метилоранж должен стойко удерживаться в водной фазе.

б) Гидролиз и ацетилирование [261D]. Белок гидролизуют

6 н. HCl в запаянных под разрежением трубках в течение 24 час. После удаления избытка HCl выпариванием остаток растворяют в небольшом количестве воды, подщелачивают 6 н. NaOH до щелочной по тимолфталеину реакции и концентрируют до жидкого сиропа. Ацетилирование аминокислот производят при помощи 5 *мл* 4 н. NaOH и 1 *мл* уксусного ангидрида, которые вводят пятью равными порциями в течение 15 мин. Между прибавлением реактивов раствор встряхивают и охлаждают. Дают раствору постоять 10 мин. при щелочной реакции по тимолфталеину и затем подкисляют его по тимолсинему 10% серной кислотой.

в) Хроматографирование [439, 261A]. Когда колонка готова, смесь ацетилированных аминокислот переносят на нее, экстрагируя аминокислоты небольшими порциями в 1 *мл* горячей смеси растворителей. Раствор осторожно выпускается из пипетки на верхнюю поверхность колонки, причем следует стараться не нарушить структуры геля. Дают раствору впитаться в гель и тогда только добавляют следующую порцию. Другой способ загрузки колонки состоит в том, что подкисленную смесь ацетилированных аминокислот адсорбируют на достаточном количестве силикагеля, размешивают его в однородную массу с 17% смесью бутанола и хлороформа (полунасыщенной водой) и загружают в колонку обычным приемом (см. [261D]).

Содержание аминокислот [261A, 261B, 261C, 261D]

Высчитано на 16% азота

Аминокислоты	Желатина, *г*	Шерсть, *г*	Грамицидин, *г*	Тироцидин, *г*
Метионин	0,5—1,1	0,3	—	—
Тирозин	—	5,8	—	12,4—14,1
Триптофан	—	—	47—53	1—11
Фенилаланин . . .	0,8—1,9	1,5	—	23—28
Лейцин				
Изолейцин	5,9	9,3	30,3	11—13
Валин	2,3	5,2	22,2	9,11
Глютамин. кислота .				10,3—12,1
Аспарагин. кислота				9,3—10,5
Пролин	12,7	6,8		7,7— 8,5
Аланин	8,4—9,2	4,0	10,3	
Гликоколь			2,5—5,7	
Орнитин				7—10

в) Хроматографирование ... аминокислот переносят на нее,
ва, смесь ацетилированных аминокислот небольшими порциями в 1 *мл* горя-
кстрагируя аминокислоты небольшими порциями в 1 *мл* горя-
ей смеси растворителей. Раствор осторожно выпускается из пи-
етки на верхнюю поверхность колонки, причем следует ста-
аться не нарушить структуры геля. Дают раствору впитаться
гель и тогда только добавляют следующую порцию. Другой
пособ загрузки колонки состоит в том, что подкисленную смесь
цетилированных аминокислот адсорбируют на достаточном ко-
ичестве силикагеля, размешивают его в однородную массу
17% смесью бутанола и хлороформа (полунасыщенной водой)
и загружают в колонку обычным приемом (см. [261D]).

Содержание аминокислот [261A, 261B, 261C, 261D]

Высчитано на 16% азота

Аминокислоты	Желатина, *г*	Шерсть, *г*	Грамицидин, *г*	Тироцидин, *г*
Метионин	0,5—1,1	0,3	—	—
Тирозин	—	5,8	—	12,4—14,1
Триптофан	—	—	47—53	1—11
Фенилаланин . . .	0,8—1,9	1,5	—	23—28
Лейцин				
Изолейцин	5,9	9,3	30,3	11—13
Валин	2,3	5,2	22,2	9,11
Глютамин. кислота .				10,3—12,1
Аспарагин. кислота				9,3—10,5
Пролин	12,7	6,8		7,7— 8,5
Аланин	8,4—9,2	4,0	10,3	
Гликоколь			2,5—5,7	
Орнитин				7—10

Ацетилированные аминокислоты разделяются хроматографически повторной адсорбцией на силикагеле и элюцией следующими растворителями: 1% бутиловый спирт в $CHCl_3$, 3% бутиловый спирт в $CHCl_3$, 17% бутиловый спирт в $CHCl_3$, 5% и 30% пропиловый спирт в циклогексане.

Примечание. Этот метод, который позволяет разделить и определить несколько аминокислот из раствора, содержащего 2—4 *мг* азота, является крупным достижением в химии аминокислот. Технические детали этого метода все еще подвергаются изменениям. В таблице приведены в качестве примера результаты, полученные Гордоном, Мартином и Сайнджем при помощи разделительной хроматографии. Следует обратить внимание на выделение орнитина из тироцидина — единственное в своем роде открытие, представляющее значительный интерес. (См. также «Дополнения».)

Д. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ (ЛАЙМАН, КУИКЕН, НОРМАН И ГЭЛЬ [433B], ТОМПСОН [608A])

Основы метода. Способность некоторых микроорганизмов произрастать на синтетических средах была использована для количественного определения каждого компонента этих сред в отдельности. За последние годы этим принципом широко воспользовались для определения витаминов; новейшие сообщения говорят о том, что при помощи количественных методов, основанных на этом же принципе, удается определять аминокислоты гораздо точнее и проще, чем химическими приемами. Ожидается развитие этих новых методов.

Проведение опытов (Лайман, Куикен, Норман и Гэль [433B]). Применяют полную питательную среду для Lactobacillus arabinosus 17—5 (Снелла и Рейта [582A]), но гидролизат казеина заменяют смесью аминокислот: по 2 *мг* треонина, валина, лейцина, изолейцина, лизина, фенилалалина, аланина, аргинина, гистидина, пролина, серина, метионина, тирозина и по 4 *мг* аспарагиновой и глютаминовой кислот. Кроме того, добавляют на каждые 10 *мл* среды 1 *мг* норитового элюата из томатного сока и *п*-аминобензойной кислоты.

Среда для определения каждой отдельной аминокислоты из числа необходимых для роста Lactobacillus arabinosus (глютаминовая кислота, триптофан, треонин, валин, лейцин, изолейцин, цистин, лизин или фенилаланин) создается исключением этой аминокислоты из питательной среды. Количество образующейся в опытных культурах молочной кислоты служит показателем количества искомой аминокислоты в неизвестном веществе (см. работы Food Research Laboratories, Long Island City, New York).

Раздел 3

РЕАКЦИИ НА УГЛЕВОДЫ

1. РЕАКЦИЯ ДИШЕ НА УГЛЕВОДЫ [196]

Основы метода. Дише установил, что углеводная компонента тимонуклеиновой кислоты дает окрашенные производные: а) с 0,5% HCl и индолом; б) с карбазолом в 80% H_2SO_4; в) с дифениламином в H_2SO_4.

А. РЕАКЦИЯ ДИШЕ, ВИДОИЗМЕНЕННАЯ ГУРИНОМ И ГУДОМ [274]

Основы метода. По реакции Дише с карбазолом получается розовое окрашивание с глюкозой, коричневое — с маннозой и промежуточная окраска — с галактозой.

Реактивы. Очистка карбазола. Растворяют 1 часть технического карбазола в 20 частях разбавленной H_2SO_4 (8 объемных частей H_2SO_4, без HNO_3, на 1 объем H_2O), размешивают в течение 1 часа, выливают в большой объем ледяной воды, фильтруют и промывают карбазол холодной водой.

Перекристаллизовывают осадок сперва из толуола, потом из 70% этилового спирта. Повторяют весь процесс очистки, начиная с растворения в серной кислоте.

Метод. Охлаждают 9 *мл* H_2SO_4 (8 : 1) до 0° и добавляют в раствор 1,0 *мл* испытуемого раствора с содержанием от 0,05 до 0,2 *мг* сахара. Температура раствора не должна подниматься при этом выше 0°. Затем вводят 0,3 *мл* 0,5% раствора карбазола в абсолютном спирте. Размешивают и нагревают в кипящей воде в течение 10 мин. Охлаждают до 0° и измеряют окраску.

При чистых растворах сахара пользуются светофильтром 660 μ для глюкозы, 540 μ для галактозы, 520 μ для маннозы и 420 μ для фруктозы.

Примечание. Можно определить содержание двух сахаров в смеси из соотношения коэфициентов экстинкции при 420 и 520 μ, если одновременно проводить и другие качественные реакции.

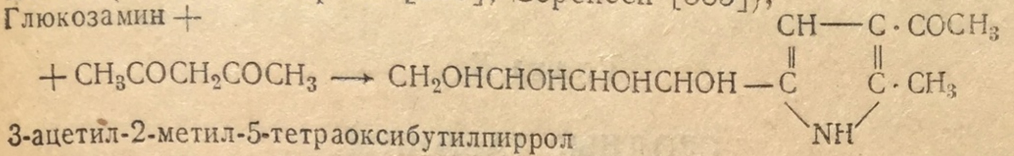
Триптофан вносит в эти определения серьезную ошибку.

Гурин и Гуд [274] нашли в казеине 0,5% галактозы.

2. РЕАКЦИЯ ПАУЛИ-ЛЮДВИГА С ГЕКСОЗАМИНАМИ [515]

Основы метода. При конденсации с ацетилацетоном гексозамины превращаются в замещенные пирролы. Последние с *п*-диметиламинобензальдегидом образуют окрашенные соеди-

нения (Элсон и Морган [208], Сёренсен [583]),



3-ацетил-2-метил-5-тетраоксибутилпиррол

А. МЕТОД ЭЛСОНА И МОРГАНА, ВИДОИЗМЕНЕННЫЙ ПАЛМЕРОМ, СМИТОМ И МЕЙЕРОМ [208, 510]

Реактивы. Ацетилацетон. Готовят реактив непосредственно перед употреблением, растворяя 0,2 *мл* ацетилацетона в 10 *мл* 0,5 н. Na_2CO_3. Хранить на холоду.

Спирт безальдегидный. Перегоняют этиловый спирт после обработки Ag_2O и NaOH в приборе из стекла без пробок.

Очистка *п*-диметиламинобензальдегида. Растворяют лучший продажный препарат в концентрированной HCl, разбавляют водой и осаждают альдегид фракциями, постепенно добавляя насыщенный раствор ацетата натрия. Для реакции выбирают только чистые фракции.

Реактив Эрлиха. Растворяют 800 *мг* очищенного диметиламинобензальдегида в 30 *мл* этанола, не содержащего альдегидов, и добавляют 30 *мл* крепкой HCl. Хранят на холоду.

Метод. а) Гидролиз. Разводят вещество, содержащее 0,25—1,25 *мг* гексозамина, до 1 *мл* водой и вводят 1 *мл* 8 н. HCl. Пробирку запаивают и помещают в кипящую водяную баню на 8 час. Затем содержимое пробирки разбавляют водой до 25 *мл* и 10 *мл* раствора титруют 0,25 н. NaOH до перехода окраски по метилкрасному.

Другие 10 *мл* гидролизата переносят в мерную колбу на 25 *мл* и нейтрализуют щелочью в количестве, составляющем 98—99% от объема, который был найден в предварительном опыте. При этом нужно хорошо размешивать. Мерную колбу наполняют до метки.

б) Конденсация с ацетилацетоном. К 1 *мл* нейтрализованного гидролизата добавляют 0,5 *мл* ацетилацетона. Пробирку помещают в кипящую баню на 15 мин. так, чтобы раствор целиком погружался бы в воду, верхнюю же часть пробирки можно охлаждать сильной струей воздуха.

Затем пробирки охлаждают водой.

в) Реакция с *п*-диметиламинобензальдегидом. Раствор разводят 2,5 *мл* спирта, не содержащего альдегида, и прибавляют 0,5 *мл* реактива Эрлиха при помешивании. Доводят объем раствора спиртом до 5 *мл* и хорошенько размешивают содержимое пробирок. Окраску измеряют через фильтр 530 μ.

Примечание. Очень важно проводить строго параллельно с опытными растворами также опыты на реактивы и контрольные опыты со стандартными растворами. Следует соблюдать принятые условия опыта во всех деталях.

Глава X

СВОДНЫЕ ТАБЛИЦЫ

Цифры для следующих таблиц выбраны из материала, изложенного в предыдущих главах; автор приводит их с оговоркой, так как эти цифры легко истолковать неправильно.

Нужно помнить, что методы определения аминокислот в белковых гидролизатах далеко не идеальны. Во время самого гидролиза при освобождении аминокислот происходят изменения разной глубины. Кроме того, в случае важных для питания белков, особенно растительного происхождения, следует помнить, что могут иметь место большие колебания в составе в зависимости от вида растения или животного. Подобно тому как при помощи отбора и культивирования можно изменить содержание витаминов и минеральных составных частей растения, так же можно, вероятно, изменять и аминокислотный состав белков в нем. Придет время, когда будут специально выращивать определенные растения из-за содержащихся в них незаменимых аминокислот, точно так же как сейчас их выводят из-за содержащихся в них витаминов.

Так как все цифры в предыдущих таблицах были рассчитаны на 16% азота, то и в сводных таблицах применен тот же расчет. Если, например, желательно узнать приблизительный состав очищенного в лаборатории образца фибрина с содержанием азота в 17,7% на абсолютно сухое и беззольное вещество, то необходимо умножить соответствующие данные на

$$\frac{17,7}{16,0}, \text{ или } 1,11.$$

Если, с другой стороны, желательно узнать, сколько незаменимых аминокислот получают крысы, съедающие в пищевом рационе продажный фибрин с содержанием азота в 13,0%, следует цифры табл. 2 умножить на

$$\frac{13,0}{16,0} = 0,81.$$

Если в образце муки содержится 12% белка ($N \times 5,7$), то приблизительное количество аминокислот в 100 *кг* муки можно вычислить умножением цифр, данных в последнем столбце табл. 12, на

$$\frac{2,1}{16,0} = 0,131.$$

Таблица 1

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Альбуминоиды

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Желатина	Эластин	Аминокислоты	Желатина	Эластин
Аргинин . . .	7,6 ± 0,1	0,9	Лейцин	3,7 ± 0,5	28 *
Гистидин . . .	1,0 ± 0,1	0,0	Изолейцин . .	1,7	
Лизин	4,3 ± 0,2	?	Валин	2,5	13
Тирозин . . .	0,2	1,5	Глютамин. к-та	5,4	
Триптофан . .	0,0	0,0	Аспарагин. к-та	8,5	0,0
Фенилаланин .	2,0	3,4	Гликоколь . .	23,6	27,5
Цистин	0,1	0,2	Аланин	10	6
Метионин . .	0,8	0,4	Пролин . . .	15,3 ± 0,4	14,2
Серин	3,3		Оксипролин .	13	1,9
Треонин . . .	1,5	2,5			

* Включает изолейцин.

Таблица 2

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Белки крови

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Фибрин	Гемоглобин	Белки сыворотки	Белок Бенс-Джонса	Белки клеточные
Аргинин	6,8 ± 0,6	3,5 ± 0,3	5,8 ± 0,3	4—6	3,2
Гистидин	2,3 ± 0,2	7,6 ± 0,4	2,6 ± 0,1	1	6,3
Лизин	7,5	8,0	8,0 ± 0,4	4,7	6,9
Тирозин	5,1 ± 0,7	3,0 ± 0,3	5,4 ± 0,3	5,10	6,5
Триптофан . . .	3,4 ± 0,4	1—2	1,7 ± 0,1	1—2	1
Фенилаланин . .	7	6,7 ± 0,9	5,4		8,5
Цистин	1,9 ± 0,4	0,4 ± 1,8	3,6 ± 0,1	3	1
Метионин	2,2	0,5 ± 1,8	2,1	0,7	2
Серин		5,2			
Треонин	7,9	6,8	6,3		
Лейцин	14,3 ± 3,9	16,6 ± 2,3	18		
Изолейцин	5,0 ± 0,5	1,5 ± 0,3	3		
Валин	3,9 ± 1,8	8,2 ± 1,0	6		
Глютамин. к-та .	13,8 ± 0,1	5,7		8,6	
Аспарагин. к-та .	11,9 ± 0,1	8,1		4,7	
Гликоколь	5,4 ± 0,1	следы			
Аланин		7—8		5	
Пролин		2		7	
Оксипролин . . .		0	0	0	

Таблица 3

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Яичные белки

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Альбумин	Вителлин	Ливетин	Яичный белок	Целое яйцо*	Яичный желток
Аргинин	5,7 ± 0,3	8,0	5,8	5,8	6,4	8,2
Гистидин	1,8 ± 0,3	1,4	1,2	2,2	2,1	2,6
Лизин	4,5 ± 0,5	6	5,2	6,5	7,2	5,5
Тирозин	4,2 ± 0,1	5,3	6,3	4,8	4,5	5,3
Триптофан	1,4 ± 0,2	1,8	1,5	1,6 ± 0,2	1,5	1,6 ± 0,2
Фенилаланин	6	3		5,5	6,3	5,7
Цистин	1,7 ± 0,2	1,3	3,1	2,3 ± 0,4	2,4	1,9
Метионин	5,0 ± 0,3	2,9	2,4	4,4	4,1	2—3
Серин	7,6	9,4				
Треонин	3—4	4,9			4,9	
Лейцин	9,4				9,2	
Изолейцин					8,0	
Валин	6,8				7,3	
Глютамин. к-та	16,3 ± 0,2	12,7	7,0			
Аспарагин. к-та	8,2 ± 0,2		3,1			
Гликоколь	1,9	1			2,5	
Аланин	7,4		6			
Пролин	4—5		2—3			

* Авторы считают состав этого белка наиболее полноценным.

Таблица 4

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Пищевые продукты и корма

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Мясная мука	Мясные отходы	Рыбий жидкий клей	Рыбья мука
Аргинин	5,5	7,0	5,4	5,9
Гистидин	2,7	2,0	2,6	2,4
Лизин	6,0	5,1	4,1	5,7
Тирозин	2,9	3,2	0,8	2,8

Продолжение

Аминокислоты	Мясные отходы	Мясная мука	Рыбий жидкий клей	Рыбья мука
Триптофан	0,7	0,7	0,8	1,2
Фенилаланин	6,0	4,5	1,9	4,8
Цистин	1	1,0	+	1
Метионин	3	3	1,5	3
Треонин	3—4	4	2,3	5
Лейцин	13	12,1 ± 1,1	2	10
Изолейцин	2—3	3,4 ± 0,2	1	4
Валин	6	3,4 ± 0,4	3	4

Таблица 5

Содержание аминокислот *в белках животного происхождения* в % (приближенные величины)

Гормоны и ферменты

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Инсулин	Пепсин	Тироглобулин
Аргинин	3,3	1,4	7,4
Гистидин		следы	3
Лизин	1,3	1,9	5—6
Тирозин	12,8	10,8	3,0
Триптофан . . .	0,0	2,3	2,1
Фенилаланин . .	8,4		
Цистин	12,9 ± 0,4	1,5	2—4
Метионин	0,0		1,3
Серин	3,6		
Треонин	2,7	9,9	

Таблица 6

Содержание аминокислот *в белках животного происхождения* в % (приближенные величины)

Кератины

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Волос	Шерсть	Рог	Перо	Фиброин шелка
Аргинин	8,9	10,0	10,4	6,5	0,9
Гистидин	1,0	0,7	1	0,7	0,06
Лизин	2,6	3,0	3,2	1,8	0,2
Тирозин	3,1	5,1	4—6	2—3	11,1

24 Зак. 4624. Блюк и Боллинг.

Продолжение

Аминокислоты	Волос	Шерсть	Рог	Перо	Фиброин шелка
Триптофан . . .	1,3	1,5	1,5	1	
Фенилаланин . .	2,7	3,9	4	5	
Цистин	15,9 ± 0,9	11,1 ± 0,9	7,3	9—10	0
Метионин		0,6			0
Серин					11,4
Треонин	6,4		5—6		1,3
Лейцин	7—10	11 *	15 ± 1,6		0,8
Изолейцин	3—4		4—5		
Валин	3—6	4—5	5 ± 0,5		2,7
Глютамин. к-та .	12,2	15,3	18		
Аспарагин. к-та .	3,0	7,3	3		
Гликоколь	4—5	7	10		36,8
Аланин		4	2		22,2
Пролин	8,5	9,3			1

* Включает изолейцин.

Таблица 7

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Белки молока

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Казеин	Лакталь-бумин	β-Лакто-глобулин	Цельное молоко коровье	Цельное * молоко женское
Аргинин	4,1 ± 0,2	3,5 ± 0,5	3,1	4,3	5,0
Гистидин	2,5 ± 0,3	2,0 ± 0,3	1,8	2,5	2,7
Лизин	6,9 ± 0,7	8,0 ± 1,1	10,4	7,5	7,2
Тирозин	6,4 ± 0,4	5,3 ± 0,1	4,3	5,3	5,1
Триптофан . . .	1,8 ± 0,2	2,3 ± 0,3	2,0	1,6	1,9
Фенилаланин . .	5,2 ± 0,5	5,6	5,3	5,7	5,9
Цистин	0,36 ± 0,04	3,0 ± 0,2	3,6	1,2	3,4
Метионин	3,5 ± 0,3	2,8 ± 0,2	3,6	2,8	2,0
Серин	6—7	4,9			
Треонин	3,9 ± 0,1	5,3	6,0	4,6	4,6
Лейцин	12,1	15 **	17,7 ± 4,2		12,1 ± 3,9

Продолжение

Аминокислоты	Казеин	Лактальбумин	β-Лактоглобулин	Цельное молоко коровье	Цельное * молоко женское
Изолейцин	6,5		6,6 ± 0,6		5,2 ± 0,3
Валин	7,0	4	7,9 ± 1,4		5,5 ± 1,5
Глютамин. к-та .	22,8		22,1		
Аспарагин. к-та .	6,3		10,1		
Гликоколь	0,5				
Аланин	5,6	0—1			
Пролин	8,2				
Оксипролин . . .	2				

* Авторы считают состав этого белка наиболее полноценным.
** Лейцин и изолейцин.

Таблица 8

Содержание аминокислот в *белках животного происхождения* в %
(приближенные величины)

Тканевые белки

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Белок в животном	Мозг	Печень	Мышцы животн.	Мышцы рыбьи	Смеш. железы
Аргинин . . .	6,6 ± 0,4	6,6 ± 0,2	6,5 ± 0,7	7,2 ± 0,9	5,6 ± 1,0	6,6 ± 0,4
Гистидин . . .	2,0	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,6	2,2 ± 0,4
Лизин	6,0 ± 0,3	6,2 ± 0,3	6,3	7,6 ± 1,0	6,8 ± 0,4	5,7 ± 0,5
Тирозин . . .	3,3 ± 0,3	4,1 ± 0,1	3,9 ± 0,2	3,1 ± 0,3	4	3,1 ± 0,5
Триптофан . .	1,0 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,3
Фенилаланин .	4,0	4,9 ± 0,5	7,3	4—5	4—5	4,6 ± 0,9
Цистин	2,2 ± 1,0	1,8 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Метионин . .	3	3	3,2 ± 0,1	3,2 ± 0,3	3,4	3
Серин		7,1	7,3	5,7	4,5	6,8
Треонин . . .	4,5	5,8	5,8	5,3 ± 0,4	4,4	3,8 ± 0,3
Лейцин . . .	10,8 ± 0,1	13,4 ± 2,2		12,1 ± 1,1		11,8 ± 2,0
Изолейцин . .		3,6 ± 0,3		3,4 ± 0,2		3,4 ± 0,2
Валин		4,9 ± 0,7		3,4 ± 0,4		4,0 ± 0,6
Глютамин. к-та			11,4	15	14	
Аспарагин. к-та			6,9			
Гликоколь . .	10		8,5	4		
Аланин		6			7	
Пролин				6	3	

Таблица 9

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Белки кукурузы

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Цельное зерно кукурузы	Зародыши	Глютин	Зеин	Зеин: отходы выделения	Альбумины
Аргинин . . .	4,0	6,8	3,1	1,6 ± 0,2	2,9	5,4
Гистидин . . .	2,4	2,7	1,7	0,9 ± 0,2	1,6	6,7
Лизин	2,5	5,8	1,1	0,0	1,6	1
Тирозин . . .	6,1	4,9	6,2	5,0 ± 0,2	6,2	3,8
Триптофан . .	0,6	1,3	0,6	0,1	1,1	0,7
Фенилаланин .	4,5	5,6	6,6	6,4 ± 0,7	4,5	1,7
Цистин	1,1	1,2 ± 0,3	1,2	0,8 ± 0,1	1,8 ± 0,3	0,5
Метионин . .		2,3	5,5	2,4	4,8	
Треонин . . .	3,6	4,4	4,0	2,4	4,0	3,9
Лейцин	21,5 ± 2,4	16,3 ± 3,1	24,7 ± 3,7	23,7 ± 2,1	11,0 ± 2,9	11,3 ± 4,1
Изолейцин . .	3,6 ± 0,3	3,7 ± 0,4	4,9 ± 0,3	4,3 ± 0,4	2,0 ± 0,3	1,3 ± 0,4
Валин	4,6 ± 0,7	5,8 ± 1,2	4,6 ± 1,4	2,4 ± 0,9	5,5 ± 1,0	2,5 ± 1,1
Глютамин. к-та			24,4 ± 0,4	35,6		
Аспарагин. к-та				3,4		
Гликоколь . .			4,3	0,0	9,6	
Аланин				9,9		
Пролин				9—12		
Оксипролин .				1		

Таблица 10

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Травы, листья, дрожжи, ферменты, вирусы

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Травы	Листья	Вирусы	Дрожжи	Желтый фермент
Аргинин	6,9 ± 0,4	6,6 ± 1,0	9—10	4,3 ± 0,5	8,1
Гистидин	1,5 ± 0,4	1,4 ± 0,3	0—0,6	2,8 ± 0,3	2,8
Лизин	4,9 ± 0,5	5,0 ± 0,4	0,0	6,0 ± 0,4	13,6
Тирозин	5,0 ± 0,2	5,3 ± 0,2	4—6	4,2 ± 0,2	7,7
Триптофан . . .	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,4	1,5 — 4,9	1,8 ± 0,5	4,8
Фенилаланин . .		4—5	4—10	4,1	5,6

Продолжение

Аминокислоты	Травы	Листья	Вирусы	Дрожжи	Желтый фермент
Цистин	2,0 ± 0,1	1,8 ± 0,2	0,7	1,3 ± 0,3	0,5
Метионин	2,4 ± 0,1	2,3 ± 0,3	0,0	2	
Серин			7,0		
Треонин		4,8	6,3	5,0	
Лейцин		11		7,3	
Изолейцин		5,4 ± 0,2		6,0	
Валин		6		5,3	
Глютамин. к-та			6,0		6,8
Аспарагин. к-та			3—0		
Гликоколь			0,0		
Аланин			2,8		8,1
Пролин			5,5		6,4
Оксипролин					0,0

Таблица 11

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Белки семян

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Мука из хлопк. семян	Мука из натурального льняного семени	Мука из землян. ореха	Мука из высуш. льняного семени	Соевая мука	Овес	Рис
Аргинин	7,4	6,2	9,9	6,9	5,8	6,0	7,2
Гистидин	2,6	1,5	2,1	1,9	2,3	2,0	1,5
Лизин	2,7	2,5	3,0	1,0	5,4	3,3	3,2
Тирозин	3,2	5,1	4,4	3,9	4,1	4,5	5,6
Триптофан	1,3	1,9	1,0	1,6	1,6	1,3	1,3
Фенилаланин	6,8	5,6	5,4	6,0	5,7	6,9	6,3
Цистин	2,1	1,9	1,6	1,9	0,6 ± 1,4	1,8	1,3
Метионин	1,6	3	0,9	2,3	2,0	2,3	3,4
Серин							
Треонин	3,0	5,1	1,5	4,0	4,0	3,5	3,9
Лейцин	5,0	7,5 ± 2,8	5,5	<5	6,6	8,0	7,7
Изолейцин	3,4	3,4 ± 0,3	3,4	1,5 ± 0,2	4,7	5,3	5,1
Валин	3,7	5,8 ± 1,3	4,0	7,5 ± 0,6	4,2	6,5	6,4
Гликоколь	5,3		5,6				

Таблица 12

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Белки пшеницы

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Целое зерно пшеницы	Зародыш	Глиадин	Глютин	Мука
Аргинин	2,8 ± 0,5	6,0	2,6 ± 0,2	3,9	3,9
Гистидин . . .	1—2	2,5	1,6 ± 0,2	2,2	2,2
Лизин	2,7	5,5	0,5	1,9	1,9
Тирозин	3,8 ± 1,0	3,8	2,8 ± 0,4	3,8	3,8
Триптофан	1	1,0	0,8 ± 0,1	1,0	0,8
Фенилаланин . .	5,7	4,2		5,5	5,5
Цистин	1,3 ± 0,3	0,6	2,1 ± 0,2	1,7	1,9
Метионин		2	2,1	3	3
Серин					
Треонин	3,3	3,8	2,7	2,5	2,7
Лейцин	5,8	7,4 ± 2,3			12,0 ± 0,6
Изолейцин	3,3	3,0 ± 0,5			3,7 ± 0,2
Валин	3,6	4,1 ± 1,0			3,4 ± 0,5
Глютамин. к-та .			4,2	27	
Аспарагин. к-та .			1,3	10	
Гликоколь . . .			0—1	9	7,2
Аланин			2—3	5	
Пролин			12	10	
Оксипролин . . .					

Таблица 13

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Глобулины семян

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Эдестин	Глобулин хлопк. семян	Арахин	Глицинин	Рицин
Аргинин	13,5 ± 0,5	12,8	5,4	8,5	11,7
Гистидин	2,3 ± 0,5	3,0	1,9	3,3	0,0
Лизин	2,4 ± 0,5	5,2	2—4		6
Тирозин	3,3 ± 0,4	3,1	4,5		2,7
Триптофан . . .	1,4 ± 0,1	1,5	0,6	1,8	0,4
Фенилаланин . .	3,4	7,9	5,5		

Продолжение

Аминокислоты	Эдестин	Глобулин хлопк. семян	Арахин	Глицинин	Рицин
Цистин	1,1 ± 0,3	1,0	1,0 ± 0,2	1,1	1,0
Метионин	1,9 ± 0,2	2,3	0,6 ± 0,1	1,7	
Серин		2,7	4,6		
Треонин		2,7	2,3		2,7
Лейцин	7	8,0			15*
Изолейцин . . .		2,2			
Валин	5	6,1			
Глютамин. к-та .	17,8	17	17	18	19
Аспарагин. к-та .	10,3		5	9	2
Гликоколь	1,6		1,8		
Аланин	4,8				4
Пролин	5,4				0
Оксипролин . . .					

* Включает изолейцин.

Таблица 14

Содержание аминокислот в *растительных белках* в %
(приближенные величины)

Пшеничные продукты различных сортов

Вычислено на 16% азота

Аминокислоты	Хлеб	„Wheatena"	„Ralston"	„Cream of wheat"	„Puffed sparkies"	„Cerevim"
Аргинин	3,5	5,0	5,4	3,0	2,2	2,3
Гистидин	2,3	1,7	2,7	1,6	2,2	1,2
Лизин	2,8	3,0	3,4	1,6	0,9	1,4
Тирозин	4,4	3,3	3,5	3,6	2,0	2,3
Триптофан . . .	1,3	1,3	1,0	1,4	0,8	0,6
Фенилаланин . .	5,1	5,6	5,5	5,6	4,6	2,8
Цистин	2,2	1,2	1,8	1,7	0,7	0,7
Метионин	2—3					1,6
Треонин	2,8	3,9	3,8	2,7	3,8	2,1
Лейцин	11,2 ± 1,6					
Изолейцин . . .	2,8 ± 0,3					
Валин	3,1 ± 0,5					

Глава XI

ПОТРЕБНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА В НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТАХ

На основании собранных в этой монографии данных было подсчитано годичное потребление человеком незаменимых аминокислот на примере населения Соединенных Штатов за 1937—1941 гг. включительно (ср. Блок [108]). В табл. 1 представлено среднее годовое потребление пищевых продуктов, белков и незаменимых аминокислот на одного человека.

В табл. 2 приведена оптимальная потребность человека в незаменимых аминокислотах в день согласно опытам В. Роуза на растущих крысах и по данным И. Г. Мэси и Блока (ср. [108]). Приведены также те количества аминокислот, которые вводятся в организм в составе 100 *г* белка из мяса, молока, белой муки и хлеба, обогащенного 6% сухого молока.

Наконец, в табл. 3 показана оптимальная потребность в каждой незаменимой аминокислоте по данным В. Роуза, Мэси и Блока, и какой процент потребности в этих аминокислотах соответствует количеству, которое вводится в организм вместе со 100 *г* белков из мяса, молока, муки и хлеба. Хотя белок коровьего молока значительно уступает по качествам белку из женского молока, эта таблица показывает, насколько в среднем этот белок коровьего молока все же выше по качеству белков из мяса, муки и хлеба.

Хорошо известен недостаток лизина и триптофана в белой муке, но менее известно недостаточное содержание в ней треонина и валина. Интересно сделать небольшой подсчет. Если человеку в день нужно 5,2 *г* лизина, то для покрытия этой потребности нужно 186 *г* белка, или приблизительно 6200 *кал*, за счет хлеба, обогащенного 6% сухого молока. Если хлеб сделан обычным способом, то потребуется 260 *г* белка в день, или приблизительно 8600 *кал* (8 кусков).

Из этих же подсчетов можно вывести, что если в хлеб с 6% сухого молока добавлять еще 2 *г* лизина на 100 *г* белка в хлебе или при содержании в хлебе 3% сухого молока вводить в него 2,4 *г* лизина на 100 *г* белка, то дневная потребность в незаменимых аминокислотах будет покрываться при 108 *г* белка, или приблизительно 3600 *кал*, за счет хлеба (3 куска).

Таблица 1

Среднее годовое потребление незаменимых аминокислот на одного человека в Соединенных Штатах за 1937—1941 гг.

Аминокислоты	Молочные продукты	Мясо и рыба	Яйца	Бобы и орехи	Злаки *	Общее колич.	Граммов в день
	ам. фунт	ам. фунт	ам. фунт	ам. фунт	ам. фунт	ам. фунт	
В пищевых продуктах ** . . .	307,8	136,5	37,7	16,0	196,1		
В виде белка .	14,9	27,3	5,7	4,0	19,6	71,5	89
Аргинин	0,64	1,80	0,40	0,21	0,76	3,81	4,74
Гистидин	0,37	0,57	0,14	0,07	0,45	1,60	1,99
Лизин	1,12	2,10	0,34	0,19	0,40	4,15	5,16
Тирозин	0,79	0,96	0,28	0,16	0,91	3,10	3,86
Триптофан . . .	0,24	0,33	0,09	0,06	0,18	0,90	1,12
Фенилаланин . .	0,85	1,23	0,32	0,23	1,16	3,79	4,71
Цистин	0,16	0,30	0,12	0,04	0,33	0,95	1,18
Метионин . . .	0,42	0,93	0,23	0,08	0,69	2,35	2,93
Треонин	0,69	1,17	0,29	0,16	0,61	2,92	3,63
Лейцин	2,24	3,3	1,1	0,32	3,14	10,1	12,6
Изолейцин	0,75	0,93	0,30	0,16	0,81	2,95	3,67
Валин	0,97	0,95	0,28	0,18	0,75	3,13	3,90
Гликоколь	0,07	1,4	0,15	0,06		1 – 2	

* Злаки рассчитаны из 2/3 пшеницы и 1/3 кукурузы.
** На основании сельскохозяйственного положения в августе 1942 г.

Таблица 2

Суточная потребность человека в незаменимых аминокислотах

Аминокислоты	На основании исследов.			Доставляется со 100 г белка из:			
	рост крыс (Роуз)	анализ аминокислот					
		Мэси	Блок	мяса	молока	белой муки	обогащен. хлеба *
	г/день	г/день	г/день	г	г	г	г
Аргинин	1,2	4,7	4,7	7,2	4,3	3,9	3,5
Гистидин . . .	2,4	1,6	2.0	2,1	2,5	2,2	2,3
Лизин	6,0	4,6	5,2	8,1	7,5	2,0	2,8
Тирозин		3,9	3,9	3,1	5,4	3,8	4,4
Триптофан . . .	1,2	0,9	1,1	1,2	1,6	1,0	1,3
Фенилаланин . .	4,2	4,2	4,7	4,5	5,7	5,5	5,1
Цистин+метионин	3,6	3,7	4,1	4,2	4,0	4,2	4,2
Треонин	3,6	3,2	3,6	4,3	4,6	2,7	2,8
Лицин	5,4	9,6	12,6	12,1	16,2	12,0	11,2
Изолейцин	3,0	3,1	3,7	3,4	4,4	3,7	3,3
Валин	4,2	3,2	3,9	3,4	5,5		3,1

* Обогащенный хлеб содержит 6% сухого молока и дрожжи с высоким содержанием витаминов.

Таблица 3

Процент оптимальной суточной потребности человека в незаменимых аминокислотах, доставляемых 100 *г* белка в мясе, молоке, белой муке, обогащенном витаминами хлебе, кукурузе и соевых бобах

Аминокислоты	Средняя потребность рассчитано *г*	Доставляется со 100 *г* белка из:					
		мяса, %	молока, %	белой муки, %	обогащ. хлеба *, %	кукурузы, %	соевых бобов, %
Аргинин	3,5	210	125	110	110	115	165
Гистидин	2,0	105	125	110	113	120	115
Лизин	5,2	145	140	40	55	40	105
Тирозин	3,9	80	140	100	115	155	105
Триптофан . . .	1,1	110	175	90	120	55	145
Фенилаланин . . .	4,4	100	130	125	115	105	125
Цистин + метионин	3,8	110	105	110	110	130	80
Треонин	3,5	125	135	80	80	105	120
Лейцин	9,1	135	180	130	120	240	90
Изолейцин . . .	3,3	105	135	110	100	115	125
Валин	3,8	90	145		80	120	115

* Обогащенный хлеб содержит 6% сухого молока и дрожжи с высоким содержанием витаминов.

ПРИМЕЧАНИЯ РЕДАКТОРА

1 Этот метод является мало пригодным.

2 После длительного стояния (2—3 суток) в холодильнике.

3 NH_3 необходимо удалять в вакууме при 10—20 *мм*.

4 Пикрат натрия — сильно взрывчатое вещество.

5 Нет прямой необходимости в употреблении таких сложных приборов.

6 Или какого-либо высокомолекулярного спирта (от амилового и, лучше, выше).

7 Метод может быть успешно применен в растворах основных аминокислот после электрофореза.

8 Этот метод следует считать основным методом определения данных аминокислот, так как работа проводится с небольшими объемами и с полным освобождением от других аминокислот.

9 См. также работу Садикова и Линквист-Рысаковой: Докл. АН СССР, **1**, 575 (1934).

10 Окраска с тирозином желтая, а не красная, но тем не менее не мешает определению.

11 См. работу Косселя и Гаврилова: Zeit. phys. Chem., **81**, 274 (1912).

12 Хорошо очищенный глиадин не содержит лизина.

13 В автоклаве при 180° и 10 *ат* давления в 2—3% H_2SO_4 триптофан не разрушается.

14 При этом методе необходимо полное отсутствие ионов хлора как в белке, так и в уксусной кислоте. Необходимо уксусную кислоту перегнать над Ag_2O или ацетатом серебра.

15 См. предыдущее примечание редактора.

16 Лучше 10% раствор мочевины.

17 Трубки перед заполнением эвакуируют.

18 Спектрофотометрические методы точны и перспективны вопреки мнению авторов.

19 При определении цистина как в этом методе, так и в других безусловно не рекомендуется обесцвечивание углем.

20 В некоторых белках содержится не только цистин, но и метионин.

21 Определение ведут в специальном приборе, см. ориг. статью.

22 Указание на 19% $SnCl_2$ явно ошибочно. Получение глютаминовой кислоты идет гладко и при гидролизе одной HCl.

23 Для полного осаждения необходимо оставить в холодильном шкафу на одни сутки и повторить переосаждение, растворив осадок в HCl.

24 См. описание прибора в оригинальной статье.

25 Метод весьма условен и не дает хороших результатов.

26 Таблицы по содержанию лейцина, изолейцина и валина, а также сводные таблицы аминокислотного состава приведены по 2 изданию книги Блока и Боллинга за 1945 г.

ОТ РЕДАКТОРА РУССКОГО ПЕРЕВОДА

Как уже отмечалось ранее, в книге Блока и Боллинга не приведены работы авторитетных советских исследователей по методам определения аминокислот, а в многочисленных таблицах по аминокислотному составу почти совсем отсутствуют цифры, полученные в СССР.

Подобного рода одностороннее освещение вопроса не может считаться удовлетворительным, и мы считаем необходимым восполнить этот пробел, поэтому в примечаниях к книге приведены основные оригинальные методы исследования аминокислот, разработанные в СССР, и наиболее существенные данные по аминокислотному составу белков и пищевых продуктов.

Обширные сводки по аминокислотному составу белков, приведенные Блоком и Боллингом, страдают иногда тем существенным недостатком, что некоторые цифры являются уже устаревшими.

Стремясь избежать подобного рода «объективных ошибок», мы обратились к ряду ученых, занимавшихся определением аминокислотного состава белков, с просьбой предоставить соответствующий материал. Мы выражаем благодарность профессорам И. Б. Збарскому, С. Р. Мордашеву, А. Е. Браунштейну и Е. Д. Каверзневой, которые предоставили нам материал, приведенный в таблицах. Кроме того, мы сочли целесообразным привести перечень литературы, в которой можно найти интересующие читателя сведения по аминокислотному составу белков, полученные в СССР. Разделение и определение аминокислот методом хроматографии написано Т. С. Пасхиной. Рисунки № 1, 2, 3 и диаграммы № 5 и 6, приведенные в этом разделе, заимствованы из статьи Консден, Гердон и Мартин, Biochem. J. 38, 224 (1944). По не зависящим от редактора и переводчика обстоятельствам именной и предметный указатели не охватывают примечаний и библиографий, помещенных ниже в тексте.

Н. И. Гаврилов

ПРИМЕЧАНИЕ К СТР. 45

ГАЗОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРГИНИНА И ДРУГИХ ЗАМЕЩЕННЫХ ГУАНИДИНА ПО ЦУВЕРКАЛОВУ [1]

Основы метода. Гипобромит реагирует с аргинином, выделяя 50% азота в виде газообразного:

$$\begin{matrix}H_2N\\NH\end{matrix}\!\!>C-NH-CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH + 3NaBrO \longrightarrow$$

$$\longrightarrow N_2 + 3NaBr + H_2O + NH_2\cdot CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH + CO_2$$

Реактивы. Раствор гипобромита натрия. Насыщенный раствор смеси $KBr + KBrO_3$ (1,8125 *г* KBr = 0,3145 *г* $KBrO_3$) обрабатывают 25% раствором серной кислоты, а затем 40% раствором щелочи.

Метод. В бюретку [2], имеющую двухходовой кран и снабженную сосудиком для введения жидкости, наливают 1—2 *мл* 1/100 мол. раствора аргинина. В сосудик вносят 1 *мл* насыщенного раствора бромистых солей и 0,2—0,3 *мл* 25% серной кислоты. Смесь помешивают стеклянной палочкой для равномерного выделения брома, что узнается по интенсивному желтому окрашиванию раствора. Затем добавляют 1 *мл* 40% раствора NaOH, не содержащего карбонатов, и смесь опять перемешивают. Приготовленный таким образом раствор гипобромита натрия осторожно вводят в бюретку. Тотчас же начинается реакция, которая продолжается 3—5 мин. Для ускорения выделения азота бюретку встряхивают легкими ударами руки. После конца выделения определяют объем азота, установив ртуть в обоих коленах прибора на одном уровне. Найденное количество азота равно половине всего азота навески аргинина.

Ошибка определения не превышает 3%.

Примечание. Гипобромит натрия не реагирует с α-аминной группой и амидами аминокислот.

ГАЗОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРГИНИНА В ПРИСУТСТВИИ МОЧЕВИНЫ И СОЛЕЙ АММОНИЯ ПО ЦУВЕРКАЛОВУ И БОГОМОЛОВОЙ [3]

Основы метода. Описанный выше метод определения аргинина имеет лишь ограниченную практическую ценность, так как

в биологических жидкостях и гидролизатах белка аргинин встречается в смеси с другими азотсодержащими веществами, которые также реагируют с гипобромитом натрия, выделяя газообразный азот. Среди них особое значение имеют мочевина и соли аммония. Авторы нашли, что их можно предварительно разрушить нагреванием с азотистой кислотой. Аргинин в этих условиях дезаминируют только по *α*-аминной группе, гуанидинная группа не реагирует.

Краткое изложение метода. К 1 *мл* исследуемого раствора добавляют 4 капли насыщенного раствора азотистокислого натрия и 0,5 *мл* уксусной кислоты. Смесь нагревают 15 мин. на кипящей водяной бане. После разрушения мочевины и аммонийных солей устанавливают содержание аргинина гипобромитным методом, как описано выше. Дезаминированный аргинин выделяет при действии гипобромита натрия только $^1/_4$ всего азота, т. е. половину того количества, которое выделяется при действии гипобромита натрия непосредственно на аргинин. Этот факт необходимо принимать во внимание при произведении расчетов.

ПРИМЕЧАНИЕ К СТР. 314

МАНОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАЛЫХ КОЛИЧЕСТВ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ (*БРАУНШТЕЙН, НЕМЧИНСКАЯ И ВИЛЕНКИНА* [6]).

Основы метода. Аспарагиновая кислота метилируется диметилсульфатом в нестойкий бетаин, который в щелочной среде распадается с образованием фумаровой кислоты. Последняя восстанавливается цинком и кислотой в янтарную кислоту. Янтарную кислоту извлекают эфиром и определяют манометрически путем энзиматического окисления сукциноксидазой.

Реактивы: 1) диметилсульфат, 2) 33% раствор NaOH, 3) цинковые опилки (или тонкие стружки), 4) 20% раствор $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 5) 10-мол. фосфорная кислота (100 *мл* H_3PO_4 уд. в. 1,75 + 158 *мл* H_2O), 6) октиловый алкоголь, 7) этиловый эфир, освобожденный от перекисей, 8) фосфатный буфер (0,1 *M*, pH 7,4), 9) индикаторы — раствор фенолкрасного или розоловой кислоты, бумажка конго.

10. Раствор сукциноксидазы. Сердечную мышцу свиньи или быка (или грудную мышцу голубя) тонко измельчают в мясорубке, размешивают с 15 объемами холодной воды, оставляют на 8—10 мин., отжимают в салфетке из плотной ткани. Такую промывку повторяют 6—8 раз, после чего сильно отжатую мышечную ткань тщательно растирают в ступке с двойным по весу

количеством 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,4), оставляют на 30 мин. и центрифугируют 10 мин., осадок отбрасывают. Сердце или отмытую кашицу можно хранить в замороженном виде более недели, но кашицу перед растиранием с буфером нужно снова 1—2 раза промыть водой.

Аппаратура: 1) батарея из экстракторов Кучера—Штейделя (рис. 1) с баней для нагревания эфира; 2) микрореспирометр (аппарат Варбурга) с открытыми манометрами; сосудики конические, объемом 14—20 *мл*, с центральной вставкой и одним боковым отростком.

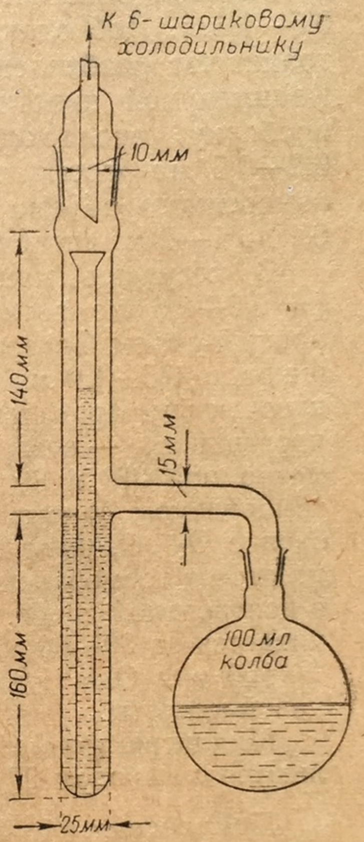


Рис. 1. Экстрактор Кучера — Штейделя.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

а) Метилирование. В пробирку экстрактора вносят 2—5 *мл* исследуемого раствора (слабокислого или нейтрального) с содержанием от 0,2 до 20 *мг* аспарагиновой кислоты. В течение 1 часа приливают попеременно при частом встряхивании 6—8 порций диметилсульфата по 1—2 капли (всего 0,25—0,60 *мл*) и вслед за ними равные по объему порции 33% NaOH. По окончании метилирования прибавляют на каждый миллилитр раствора еще по 1 капле NaOH и оставляют стоять на 1 час.

б) Восстановление фумаровой кислоты. Смесь нейтрализуют по конго фосфорной кислотой и доводят водой до определенного объема (5—10 *мл*). На каждые 10 *мл* прибавляют 0,5 *г* цинковых опилок, 0,25 *мл* раствора $CuSO_4$ и 23 *мл* 10-мол. H_3PO_4. Вспенивание предотвращают каплей октилового спирта или несколькими миллилитрами эфира. Когда растворится цинк (обычно — через 1 час), подкисляют до синей окраски на конго посредством H_3PO_4 или H_2SO_4.

в) Экстракция и определение янтарной кислоты *. Присоединив к пробирке экстрактора холодильник и колбу с эфиром, извлекают янтарную кислоту. Необходимое для полной экстракции в данных условиях время (обычно 2½—3 часа) определяют

* Применение ферментативного метода в химических лабораториях, конечно, совершенно нерационально и его необходимо заменить общеизвестными химическими методами определения янтарной кислоты.

фатного буфера (pH 7,4), оставляют на
ют 10 мин., осадок отбрасывают. Сердце
можно хранить
более недели, но
нием с буфером
промыть водой.
гарея из экстрак-
ия (рис. 1) с баней
2) микрореспиро-
ога) с открытыми
и конические, объ-
тральной вставкой
стком.

гиновой кислоты

В пробирку экстрак-
сследуемого раство-
нейтрального) с со-
20 *мг* аспарагино-
ие 1 часа приливают
астом встряхивании
исульфата по 1—2
,60 *мл*) и вслед за
бъему порции 33%
метилирования при-
миллилитр раствора
NaOH и оставляют

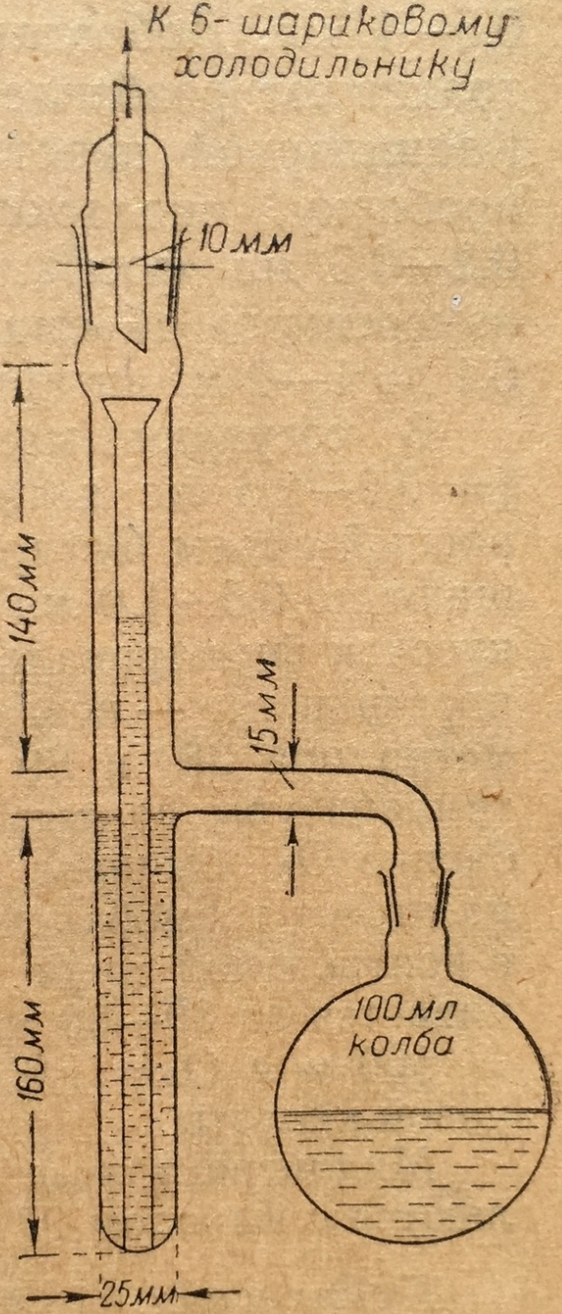


Рис. 1. Экстрактор Кучера — Штейделя.

е фумаровой кислоты.
т по конго фосфорной
водой до определен-
мл). На каждые 10 *мл*
цинковых опилок, 0,25 *мл* раствора $CuSO_4$
H_3PO_4. Вспенивание предотвращают каплей
или несколькими миллилитрами эфира. Когда
(обычно — через 1 час), подкисляют до синей
посредством H_3PO_4 или H_2SO_4.

и определение янтарной кислоты *. Присоеди-

в предварительных опытах со стандартным раствором янтарной кислоты.

К эфирной вытяжке приливают 1—2 *мл* фосфатного буфера, на водяной бане отгоняют эфир и сгущают водный остаток до 0,5—1 *мл*. Добавляют 1 каплю раствора фенолкрасного и нейтрализуют разбавленной щелочью до pH 7,4 (приблизительно). Капиллярной пипеткой переносят вытяжку в градуированную пробирку, ополаскивая колбочку несколькими порциями по 0,2—0,5 *мл* фосфатного буфера, и доводят буфером до точно измеренного объема с тем, чтобы 1 *мл* раствора содержал от 0,1 до 1—2 *мг* янтарной кислоты.

В сосудики манометров вводят 2—3 *мл* этой вытяжки (= 0,2—2,5 *мг* янтарной кислоты), в контрольный сосудик — равный объем буфера pH 7,4. В боковые отростки сосудов помещают по 0,5—1,0 *мл* сукционоксидазы, в центральную вставку — кусочек фильтровальной бумаги и 0,2 *мл* 10% NaOH; в газовом пространстве — воздух. Помещают манометры в баню респирометра при 38° и 80 качаниях в минуту. После выравнивания температуры закрывают краны манометров и измеряют потребление O_2 обычным способом (см. Кребс [7]), вводя поправки на отсчет термобарометра и на поглощение O_2 раствором энзима в контрольной пробе. Окисление янтарной кислоты обычно заканчивается за 30—60 мин.

100 *μл* O_2 = 1,05 *мг* янтарной кислоты = 1,19 *мг* аспарагиновой кислоты.

Миллиграммовые количества аспарагиновой кислоты определяются с выходом 97 ± 5%.

Примечания. 1. При определении аспарагиновой кислоты в тканевых фильтратах или биологических жидкостях, содержащих янтарную и фумаровую кислоты, необходимо до метилирования произвести предварительную экстракцию растворимых в эфире кислот из подкисленного раствора.

2. Аспарагин при метилировании дает фумаровую кислоту с непостоянным выходом. Для определения аспарагиновой кислоты в растительных объектах необходимо предварительное отделение ее от аспарагина (путем адсорбции или ионофореза).

3. Для определения содержания аспарагиновой кислоты в белках обычно достаточен гидролизат, содержащий 0,100 *г* белка, что соответствует 14—16 *мг* N (около 1 миллимоля азота). Для метилирования этого количества требуется 6 *мл* диметилсульфата (0,77 *г* = 0,59 *мл*).

ПРИМЕЧАНИЕ К СТР. 314

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ ЭНЗИМАТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ [4] *

Метод. Метод основан на способности особой бактерии (Pseudomycobacterium n. sp.) специфически декарбоксилировать *l*-аспарагиновую кислоту. Выделяющаяся при декарбоксилировании углекислота измеряется, и на основании этого делается расчет содержания аспарагиновой кислоты в исследуемом материале [5].

$$\underset{l\text{-аспарагиновая кислота}}{COOH{-}CH_2{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}COOH} \longrightarrow \underset{\alpha\text{-аланин}}{CH_3{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}COOH} + CO_2$$

Специфичность и точность метода. При помощи этого метода определяется только *l*-аспарагиновая кислота; *d*-аспарагиновая кислота по этому методу не определяется, и ее присутствие не влияет на определение. Наличие других аминокислот не мешает определению. Благодаря наличию в бактериальном препарате активной аспарагиназы, с большой скоростью дезаминирующей аспарагин в аспарагиновую кислоту, определяется не только *l*-аспарагиновая кислота, но также и *l*-аспарагин.

Замещенные по аминогруппе производные *l*-аспарагиновой кислоты (например бензоил — *l*-аспарагин) не определяются.

Благодаря относительно большой инертности энзиматической системы *l*-аспарагиновая кислота (*l*-аспарагин) может быть определена не только в гидролизатах белка, но также и непосредственно в биологических жидкостях (например, в отжатых соках из органов).

Ошибка метода не превышает ∓5%.

Техника определения. а) Приготовление сухих энзиматических препаратов.

Для посева берется 24-часовая культура Pseudomycobacterium n. sp., выращенная при 28° на мясном агаре. С одной пробирки делается смыв 5 *мл* стерильной водопроводной воды и переносится по 1 *мл* на 80—100 *мл* среды мясного агара, имеющей pH 5,9. Засеянные таким путем матрацы ставятся в термостат на 18—20 час. при 28°.

Через указанный период матрацы извлекаются из термостата и производится смыв культуры небольшим количеством свежепрокипяченной дестиллированной воды. Смыв переносится в стеклянный стакан и осаждается 5—6-кратным количеством чистого ацетона. Осадок отделяется центрифугированием в тече-

* Метод удостоен в 1949 г. Сталинской премии.

25 Зак. 4624. Блок и Боллинг.

ние 10 мин., промывается 2 раза ацетоном, переносится на маленькую воронку и промывается 3 раза эфиром. Полученный таким образом бактериальный препарат растирается в ступке в порошок и сушится на воздухе (или лучше в вакуумэксикаторе над парафином). Препарат при хранении его в леднике сохраняет энзиматическую активность в течение многих месяцев.

б) Определение. Количественное определение *l*-аспарагиновой кислоты производится в аппарате Варбурга и сводится к измерению угольной кислоты. В среднее пространство сосудика отмеривается 1 *мл* испытуемого раствора (содержащего 10—15 *мг* белка или около 0,5 *мг* аспарагиновой кислоты) и 2 *мл* ацетатного (фосфатного) буфера pH 5,6. В боковой резервуар сосудика помещается бактериальный порошок в количестве примерно 5—20 *мг*, в зависимости от активности препарата. Сосудики с манометрами помещаются в термостат Варбурга при 30—31° С. Через 10 мин. после выравнивания температуры краны манометров закрываются, содержимое бокового резервуара и средней части сосудика перемешивается и каждые 10 мин. производится отсчет выделенной углекислоты. Реакция считается законченной, когда 3 следующих друг за другом отсчета совпадают. Холостой опыт ставится аналогично вышеописанному, только вместо 1 *мл* испытуемого раствора прибавляется 1 *мл* свежепрокипяченной дестиллированной воды.

Расчет производится согласно уравнению реакции.

ПРИМЕЧАНИЕ К СТР. 361

РАЗДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ

История вопроса. В 1903—1906 гг. выдающимся русским ученым М. С. Цветом [8] был разработан хроматографический метод для разделения и анализа сложных смесей органических соединений. Принцип метода заключается в том, что разделяемые вещества избирательно адсорбируются из какого-либо растворителя на твердом порошкообразном адсорбенте. Адсорбированные вещества при проявлении колонки подходящим растворителем распределяются на зоны и извлекаются из колонки при помощи элюции (или другими способами). Метод Цвета оказался чрезвычайно плодотворным для разделения близких по структуре органических соединений и применяется до настоящего времени в самых различных областях биологической и органической химии.

Со времен Цвета разработано несколько новых форм хроматографии. Одной из таких форм является хроматография распре-

деления между двумя жидкими фазами, разработанная в 1941 г. [9] Мартином и Сайнджем. Авторы применяли этот метод для анализа белковых гидролизатов. Среди различных методов анализа белковых веществ метод этих исследователей является наиболее обещающим, так как он требует для анализа ничтожно-малых количеств белка, очень мало времени, простое оборудование и доступные реактивы. Аминокислоты, до сих пор чрезвычайно труднодоступные или совсем недоступные для анализа, могут быть разделены этим методом и количественно определены.

Особенно широкое распространение получил метод хроматографии распределения на бумаге, который применяется в настоящее время не только для анализа аминокислот, но также для анализа углеводов, пуринов, флавинов, антоцианидинов, пенициллинов и других органических и неорганических соединений. В Советском Союзе за последние годы сделано много работ в различных областях биохимии, где метод хроматографии распределения являлся часто единственным способом решения вопроса.

Теория метода. Мартин и Сайндж [9] показали, что по своему принципу метод отличен от адсорбционной хроматографии. В основе разделения аминокислот методом хроматографии распределения лежит не адсорбция, а различие в коэфициентах распределения (α) разделяемых веществ между двумя несмешивающимися жидкими фазами (например вода — фенол, вода — хлороформ). Коэфициент распределения (α) представляет собой отношение концентрации вещества в водной фазе (C_B) к концентрации в неводной фазе (C_H)

$$\alpha = \frac{C_B \text{ мг/см}^3}{C_H \text{ мг/см}^3}.$$

Величина α зависит от структуры разделяемых веществ и, следовательно, определяет их положение на хроматограмме. Чем выше значение α, тем медленнее движется аминокислота на хроматограмме.

В первых опытах Мартина и Сайнджа обе фазы были подвижны. Однако авторы пришли к заключению, что одна из фаз — водная — может быть неподвижна, если вода будет прочно удерживаться каким-либо инертным веществом, тогда как неводная фаза будет подвижна и, протекая через первую, будет избирательно распределять разделяемые вещества. Таким образом, вещество, прочно удерживающее воду, например кремневый гель, крахмал или целлюлоза, представляет собой как бы «водную колонку», через которую протекает водонасыщенный органический растворитель. Движение аминокислот в такой колонке строго закономерно и определяется структурой

аминокислоты, т. е. ее коэфициентом распределения для данной пары фаз. Оптические антиподы не различаются по коэфициентам распределения и поэтому не могут быть разделены настоящим методом.

Положение аминокислот на проявленной хроматограмме выражается коэфициентом скорости движения R для аминокислот, разделяемых в колонке, и R_F для аминокислот, разделяемых на бумаге.

$$R = \frac{\text{скорость движения исследуемого вещества}}{\text{скорость движения растворителя над колонкой}}$$

$$R_F = \frac{\text{скорость движения исследуемого вещества}}{\text{скорость движения фронта растворителя}}.$$

Мартин и Сайндж вычислили коэфициенты распределения для некоторых аминокислот из найденных ими величин R и R_F по формуле

$$\alpha = \frac{V_H}{V_B}\left(\frac{1}{R_F} - 1\right), \quad \text{где } \frac{V_H}{V_B} \text{ отношение объема растворителя к объему воды в 1 } см^3 \text{ колонки или 1 } см^2 \text{ бумаги,}$$

и получили полное совпадение рассчитанных таким образом величин α с найденными Ингландом и Кон путем прямой экстракции. Это еще раз подтвердило, что кремневый гель, крахмал и целлюлоза являются только пассивными «носителями» воды и не играют самостоятельной роли в распределении. Носители не должны адсорбировать аминокислот, так как адсорбция искажает хроматограмму.

Типы хроматографии распределения. В зависимости от вещества, которое служит носителем неподвижной водной фазы, хроматографию распределения можно разделить на три типа.

А. ХРОМАТОГРАФИЯ НА КОЛОНКАХ ИЗ КРЕМНЕВОГО ГЕЛЯ (см. стр. 361)

Разделяются только ацетилированные аминокислоты, так как свободные адсорбируются кремневым гелем. Метод количественный. Точность $\pm 5\%$. Пригоден для разделения моноаминомонокарбоновых кислот и серийных полумикроопределений фенилаланина, лейцина, изолейцина, триптофана, валина, метионина, пролина, аланина и тирозина.

Несмотря на свои большие преимущества перед другими методами, настоящий метод имеет ряд недостатков. В основном они сводятся к следующему: 1) для точного расчета количественного содержания аминокислот, выделенных после разделения на колонке из кремневого геля, необходимо вносить поправки на их разрушение при гидролизе, ацетилировании и хроматографии; это осуществляется на контрольной смеси амино-

кислот; 2) трудно подобрать партии геля, которые не адсорбировали бы аминокислот; 3) усложнение операций ввиду невозможности разделения гидролизата в одном опыте.

Б. ХРОМАТОГРАФИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НА КОЛОНКАХ ИЗ СЫРОГО КРАХМАЛА

Основы метода. Сайндж [10] показал, что сырой картофельный крахмал может быть употреблен в качестве неподвижной водной фазы. Если подвижной фазой служит водонасыщенный *н*-бутиловый спирт, то аминокислоты и пептиды двигаются на такой крахмальной колонке в виде резко очерченных полос в порядке, определяемом их коэфициентами распределения между водой и *н*-бутиловым спиртом. Разделение аминокислот и пептидов на фракции может быть прослежено, если пропускать 0,5% эфирный раствор нингидрина через проявленную *н*-бутиловым спиртом колонку. Эта реакция, как указывает Сайндж, позволяет различать аминокислоты от пептидов, так как окрашиваются только аминокислоты; пептиды не дают окраски до нагревания. Хроматограмма на крахмале оказалась пригодной для разделения частичных гидролизатов белка, что очень важно для решения вопросов о структуре белка.

Изменения pH имеют большое значение для успешного разделения аминокислот и пептидов на крахмальной хроматограмме.

Реактивы приготовления крахмала и колонки. Сырой картофельный крахмал содержит значительное количество примесей, экстрагируемых водой. Такой неочищенный крахмал дает розовое окрашивание при нагревании с нингидрином. Для колонки употребляется только отмытый крахмал, нефракционированный по величине зерен. Крахмал шестикратно отмывают декантацией 10 частями дестиллированной воды. Отмытый таким образом воздушно-сухой крахмал (5 *г*) экстрагируют 20 *см*^{3} водонасыщенного *н*-бутилового спирта при комнатной температуре в течение 24 час. Экстрагированный крахмал ресуспендируют в свежем влажном *н*-бутиловом спирте и переносят на колонку (диаметр колонки 0,9 *см*, длина 30 *см*). Через колонку дважды пропускают 25—30 *см*^{3} *н*-бутилового спирта. Вытекающий бутиловый спирт исследуют на содержание примесей. Только после такой промывки колонка готова для работы. Крахмал в этих условиях должен содержать около 38% воды от веса безводного крахмала. Колебания в содержании воды вызывают колебания в величинах R.

Приготовление гидролизата. Гидролизат, содержащий 200—250 *мг* белка, после удаления HCl в вакууме, сгущают досуха. Остаток растворяют в сыром *н*-бутиловом спирте и несколькими порциями в 1—5 *см*^{3} (объем их зависит от размера колонки) переносят на колонку.

Проведение хроматографии. После перенесения гидролизата на колонку, хроматограмму проявляют водонасыщенным *н*-бутиловым спиртом, для чего последний медленно просасывают через колонку. Проявление продолжают от 24 до 48 час. За это время собирают большое число фракций. Фракционирование основано на исследовании элюатов, вытекающих из колонки. Каплю элюата собирают на лист фильтровальной бумаги и проявляют нингидрином. Наблюдение за разделением может быть также сделано при освещении колонки ультрафиолетовым светом. Величины R вычисляют при проявлении колонки эфирным раствором нингидрина.

Примечание. Недавно Мур и Штейн [11] использовали хроматографию распределения на крахмале для разделения фенилаланина, лейцина, изолейцина, метионина, тирозина и валина. Подвижной фазой являлась смесь 1 : 1 : 0,288 *н*-бутанол — бензиловый спирт — вода. Вытекающие из колонки фракции автоматически собираются и исследуются на количественное содержание в них отдельных аминокислот.

В. ХРОМАТОГРАФИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НА БУМАГЕ

В 1944 г. Консден, Гордон и Мартин [12] разработали наиболее совершенную форму хроматографии распределения, где в качестве неподвижной фазы употребляется водонасыщенная целлюлоза в виде полос или листов фильтровальной бумаги.

Основы метода. Подвижной фазой служат органические растворители, частично смешивающиеся с водой: фенол, *s*-коллидин, изомасляная кислота, смесь 1 : 1 *н*-бутилового и бензилового спиртов, крезолы. Внешне метод похож на давно известный метод капиллярного анализа, однако разделение здесь основано не на адсорбции, а на различиях в коэфициентах распределения разделяемых веществ между двумя несмешивающимися жидкими фазами. На бумажной хроматограмме разделяются свободные, незамещенные аминокислоты и пептиды. Скорость движения аминокислот (R_F) вполне совпадает со скоростью, рассчитанной по коэфициентам распределения.

При испытании различных растворителей наиболее удовлетворительными оказались растворители, частично смешивающиеся с водой (фенол, коллидин, бутиловый спирт и др.). Растворители, полностью смешивающиеся с водой, должны содержать строго определенный и не слишком высокий процент воды, так как скорость движения аминокислот зависит от насыщенности растворителя водой. Положение аминокислот на проявленной хроматограмме целиком зависит от растворителя. Это позволяет иметь наряду с одномерными хроматограммами, т. е. проявленными в одном растворителе, так называемые двухмерные, про-

явленные в двух растворителях, благодаря чему удается обнаружить за один опыт 22—25 аминокислот.

Реактивы и аппаратура для бумажной хроматографии. Бумага. Фильтровальная бумага должна быть ровной, достаточно плотной, чтобы растворитель двигался не слишком быстро и не слишком медленно, химически чистой и достаточно чувствительной. Бумага не должна адсорбировать аминокислот. Этим свойствам удовлетворяют некоторые сорта ватманской фильтровальной бумаги — № 1, № 2, № 4, а также мунктелевская быстрая бумага № 0. ОВ. Обычная фильтровальная бумага хорошего качества может употребляться, если после испытания она будет давать четкие пятна (не растянутые и без «хвостов»). Неаналитическая бумага требует большего количества гидролизата и стандартных аминокислот, так как реакция аминокислот на такой бумаге с нингидрином менее чувствительна. Если бумага грязная и движущийся растворитель вымывает большое количество темного материала, то такую бумагу нужно экстрагировать спиртом в аппарате Сокслета. Если загрязнения вытекают с передним фронтом растворителя, не захватывая аминокислот, то такую бумагу можно не отмывать. При работе с новым сортом бумаги для нее должна быть составлена таблица величин R_F, и только этой таблицей можно пользоваться.

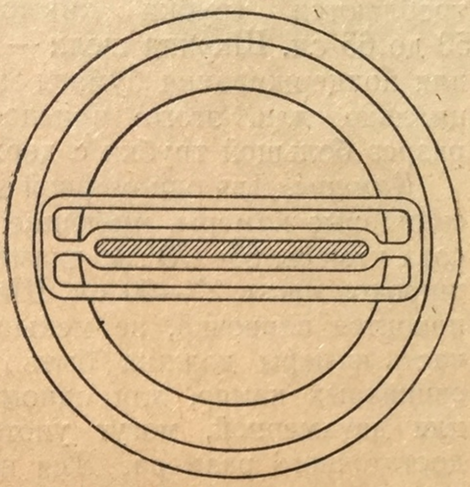


Рис. 1. Внешний вид ванночки, покоящейся на бортах камеры.

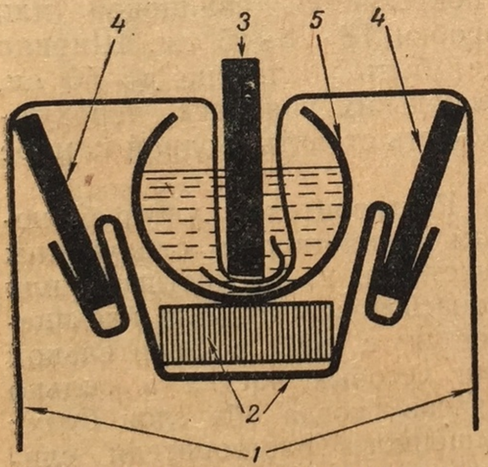


Рис. 2. Поперечный разрез ванночки с держателями для двухмерной хроматограммы.

1 — бумага; *2* — металлические держатели для ванночки и брусков; *3* — стекло, укрепляющее бумагу; *4* — бруски, поддерживающие бумагу; *5* — ванночка с растворителем.

Ванночки. Для одномерных хроматограмм употребляются стеклянные трубки, имеющие 1 *см* в диаметре и длину от 10 до 20 *см*. Трубка имеет по длине щель в 3—4 *мм*, в которую вставляется поперечный край бумаги и наливается растворитель. Трубка имеет оправу из стеклянных палочек, через которые перекидывается бумага. Внешний вид трубки, покоящейся на

бортах камеры, представлен на рис. 1. За последнее время употребляются трубки из нержавеющей стали, что удобнее для изготовления и прочнее. Для двухмерных хроматограмм употребляются трубки диаметром 1,25—2,00 *см*, длиной от 50 до 65 *см*. Ширина щели — 0,4—0,5 *см*. У такой трубки бруски для поддерживания бумаги могут удерживаться отдельно в специально для этого приспособленных камерах. Поперечный разрез большой трубки с держателями представлен на рис. 2.

Камеры. Для одномерной хроматографии могут употребляться свинцовые камеры, имеющие форму, указанную на рис. 1. Высота камеры 65—75 *см*, диаметр узкой части 23—26 *см*, диаметр широкой части 27—30 *см*. Ширина бортов раструба, на которых покоится ванночка, не меньше 1,5—2,0 *см*. Верхняя, открытая часть камеры должна быть ровной и горизонтальной. Кроме свинцовых камер, для одномерной хроматографии, а также и для двухмерной, могут употребляться стеклянные аквариумы достаточного размера. Для поддержания ванночки в них вставляются специальные стеклянные подставки. Можно пользоваться для одномерной хроматографии керамиковыми трубами. Трубы вставляются в плотно пригнанный поднос, в который наливается вода и растворитель. Для двухмерных хроматограмм употребляются свинцовые почти воздухонепроницаемые коробки, с двумя стеклянными сторонами, для наблюдения за движением растворителя. Коробка плотно покрывается свинцовой или стеклянной крышкой. Размеры коробки 78 · 78 · 15 *см*. Ширина коробки (последний размер) может быть увеличена до 50 *см*, если камеру приспособить для нескольких ванночек, чередующихся с брусками. Это дает возможность ставить в одной камере больше двух хроматограмм.

Приготовление растворителей. Растворители, употребляющиеся для хроматографии, должны удовлетворять следующим требованиям: 1) быть химически чистыми, 2) бесцветными или очень слабо окрашенными, 3) водонасыщенными. Для насыщения водой растворитель смешивается с ней в делительной воронке в равных объемных или весовых частях и сильно встряхивается. Через несколько часов, когда оба слоя будут взаимно насыщены, слой водонасыщенного растворителя сливается через сухой фильтр в сухую посуду. Фенол засыпается в делительную воронку в кристаллическом состоянии, заливается равным количеством воды и встряхивается. Через 6—8 час. происходит расслаивание. Вода, насыщенная растворителем, может быть использована для насыщения атмосферы камеры.

Одномерная хроматография. Для одномерной хроматограммы употребляются полосы фильтровальной бумаги шириной от 1,5 *см* и больше и длиной от 20 до 50 *см*. На расстоянии 5 *см* от

одного края бумаги прочерчивается карандашом поперечная линия, на которую наносят исследуемые и стандартные растворы. Их наносят на бумагу в виде капли (2—5 микролитров) из микропипетки. Раствор должен содержать не меньше 2—5 γ (гамма) каждой аминокислоты. Растворы наносятся на расстоянии 1 *см* от края бумаги и на расстоянии 1,5 *см* друг от друга. Таким образом, на один лист бумаги можно поместить целый ряд опытных и стандартных растворов, которые будут хроматографироваться в одних и тех же условиях. Поперечный край бумаги, ближний к нанесенным растворам, помещают в ванночку и укрепляют в ней предметным стеклом микроскопа (рис. 3).

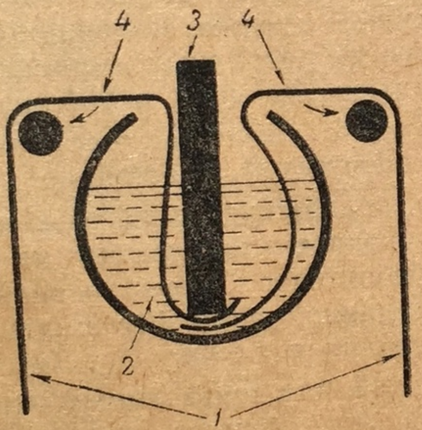


Рис. 3. Поперечное сечение ванночки для одномерной хроматограммы с укрепленной в ней бумагой.

1—бумага; *2*—растворитель; *3*—стекло, укрепляющее бумагу; *4*—стеклянные бруски, через которые перекидывается бумага.

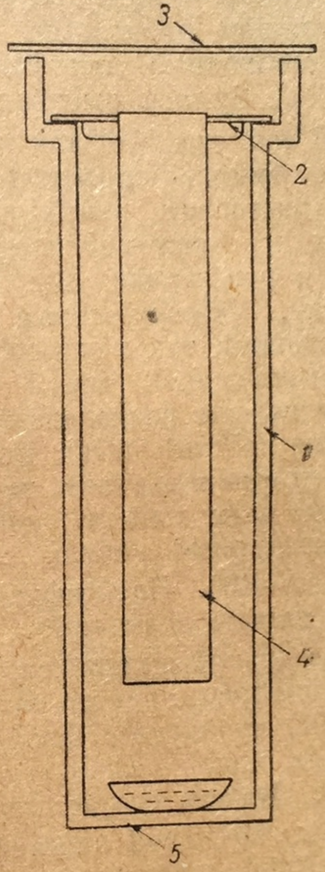


Рис. 4. Продольное сечение заряженной камеры для одномерной хроматограммы.

1 — свинцовая камера; *2* — ванночка, покоящаяся на бортах камеры; *3*—крышка камеры; *4*—бумага; *5*—чашка, содержащая воду и растворитель.

Ванночка и бумага устанавливаются в свинцовую или стеклянную камеру, насыщенную парами воды и растворителя. Для насыщения атмосферы, за несколько часов до погружения в нее ванночки и бумаги, на дно камеры помещается фарфоровая чашка (рис. 4), содержащая воду и растворитель. После этого в ванночку наливают растворитель. Объем растворителя зависит от размера бумаги и ее плотности. Обычно наливается $^1/_2$ или $^3/_4$ объема ванночки. Камера плотно закрывается крыш-

кой. Внешний вид заряженной одномерной камеры представлен на рис. 4. Растворитель сифонируется вниз по бумаге. Когда он продвинется на нужное расстояние (от 20 до 40 см за 18—20 час., что зависит от природы растворителя, температуры и плотности бумаги), бумагу вынимают из камеры и отмечают карандашом расстояние, на которое подвинулся растворитель. Это необходимо для расчета коэфициентов скорости движения (R_F). Бумагу высушивают в сушильном шкафу в течение 2—2,5 час. при 110° для удаления растворителя. После высушивания бумагу опрыскивают из стеклянного пульверизатора 0,1% раствором нингидрина, в водонасыщенном *н*-бутиловом спирте и снова переносят в сушильный шкаф, где высушивают и прогревают еще 5—7 мин. при 90—100° для развития окраски. Обнаруженные на бумаге цветные пятна обводят карандашом, так как окраска через несколько дней выцветает. На выполненной таким образом одномерной хроматограмме аминокислоты располагаются линейно друг под другом в виде цепочки цветных пятен. Большинство аминокислот дает лиловую окраску с нингидрином, за исключением пролина и оксипролина, которые дают желтую окраску. Окраска различных аминокислот с нингидрином наряду с величинами R_F дана в таблице на стр. 402—403. Идентификация каждого пятна осуществляется после расчета величин R_F. Для вычисления R_F расстояние, пройденное данной аминокислотой, т. е. расстояние от места нанесения раствора до центра пятна, выраженное в *мм*, делится на расстояние, пройденное фронтом растворителя. Затем по таблице находят, какой аминокислоте, при данной паре фаз и данном номере бумаги, соответствует найденная величина R_F. Однако для окончательной идентификации той или иной аминокислоты необходимо наносить на этот же лист бумаги «свидетель», т. е. 2—4 γ (гаммы) стандартной аминокислоты. Это необходимо делать, так как целый ряд факторов, о которых будет сказано ниже, влияет на величину R_F и может быть причиной ошибки исследователя.

Двухмерная хроматография. Если имеется гидролизат белка, содержащий полный набор аминокислот, то на одномерной хроматограмме нельзя получить пятен, соответствующих всем присутствующим аминокислотам. Это объясняется тем, что еще не найден растворитель, в котором все аминокислоты имели бы различную скорость движения (R_F). При различных скоростях движения аминокислот в различных растворителях применяются двухмерные хроматограммы, на которых можно обнаружить почти все аминокислоты, присутствующие в гидролизате. Приступая к выполнению двухмерной хроматограммы, выбирают

пару растворителей (по таблице), в которых значения R_F больше всего различаются. В некоторых случаях важно найти нужное различие в R_F для наиболее интересующих аминокислот. Когда такая пара растворителей найдена (чаще всего употребляется система фенол — s-коллидин), откладывают значения R_F, для каждой аминокислоты в одном растворителе на оси абсцисс,

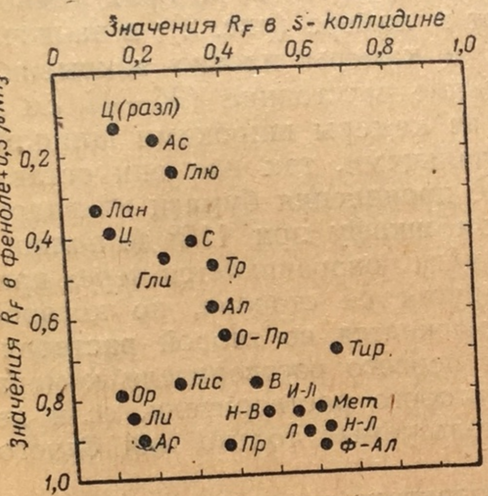


Рис. 5. Диаграмма двухмерной хроматограммы, показывающая ожидаемое положение аминокислот в растворителях: 1) фенол $+ 0,3\%\ NH_3$, 2) *s*-коллидин.

Ас — аспарагиновая кислота; *Ал* — аланин; *Ар* — аргинин; *В* — валин; *НВ* — норвалин; *Глю* — глютаминовая кислота; *Гли* — глицин; *Гис* — гистидин; *Лан* — лантионин; *Лu* — лизин; *Л* — лейцин; *И-Л* — изолейцин; *Н-Л* — норлейцин; *Мет* — метионин; *ОПр* — оксипролин; *Пр* — пролин; *Тир* — тирозин; *Тр* — треонин; *С* — серин; *Т* — триптофан; *ФАл* — фенилаланин; *Ц* — цистин; *Ц* (*разл*) продукт разложения цистина.

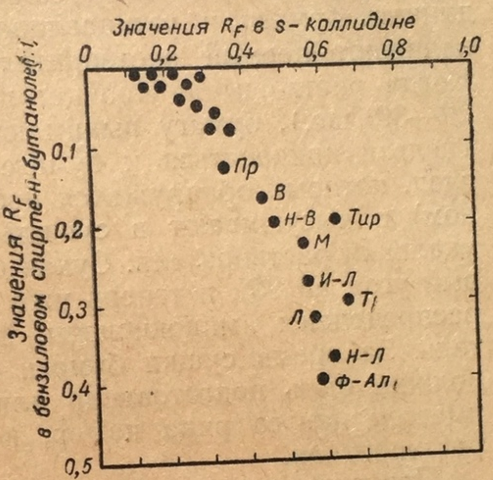


Рис. 6. Диаграмма двухмерной хроматограммы, показывающая ожидаемое положение аминокислот в растворителях: 1) бензиловый спирт — *н*-бутанол (1:1), 2) *s*-коллидин.

в другом — на оси ординат. В результате получают «карту» (рис. 5 и 6), где видна позиция всех интересующих аминокислот. Если эта позиция удовлетворяет исследователя, то именно эта пара растворителей и употребляется. Важно при этом учесть, какой растворитель будет употреблен первым. Часто для расшифровки одной группы аминокислот употребляется одна пара растворителей, для другой группы — другая, например система фенол — s-коллидин дает прекрасный разгон для всех аминокислот за исключением лейцина, изолейцина, норлейцина, норвалина, метионина и фенилаланина (рис. 5), которые представляют собой на хроматограмме группу тесно сближенных пятен. Эта группа аминокислот может быть расшифрована в системе: бензиловый — бутиловый спирт — *s*-коллидин (рис. 6). Однако в этой системе (как видно из диаграммы) все остальные аминокислоты почти не разгоняются. Таким образом, употребляя две

двухмерные хроматограммы, можно с достоверностью разобраться в аминокислотном составе гидролизата белка.

Выполнение двухмерной хроматограммы. На лист фильтровальной бумаги, размером 45 × 55 *см*, наносят каплю гидролизата объемом 10—25 *мл*, содержащую не меньше 0,2—0,3 *мг* белка. Каплю помещают вблизи одного угла бумаги, на расстоянии 5—6 *см* от обеих сторон. Бумагу помещают в ванночку, укрепляют в ней тонкой стеклянной пластинкой, которая немного длиннее бумаги, и устанавливают в камере (рис. 2); в ванночку заливают первый растворитель, и камеры плотно закрывают. Когда растворитель пройдет нужное расстояние (35—45 *см* за 20—30 час.), бумагу вынимают из камеры широкими щипцами (нельзя прикасаться к бумаге пальцами, так как они оставят след, который обнаружится после проявления бумаги нингидрином) и высушивают в сушильном шкафу при 110° до полного удаления растворителя. Сухая бумага поворачивается через правый угол на 90°, и теперь уже другая ее сторона, по которой распределены аминокислоты, погружается во второй растворитель. За время сушки бумаги от первого растворителя камера должна быть подготовлена для второго растворителя, если не имеется целого ряда камер, используемых только для одного растворителя.

После того как и второй растворитель продвинется на нужное расстояние (через 24—72 час.), бумагу вынимают из камеры, вторично высушивают и проявляют 0,1% раствором нингидрина в водонасыщенном *н*-бутиловом спирте. На полученной двухмерной хроматограмме каждая аминокислота занимает положение, определяемое ее структурой (характером функциональных групп, длиной углеродной цепи, формой цепи и др.). Ниже приводится фотография (рис. 7) двухмерной хроматограммы гидролизата шерсти.

Если положение какой-либо аминокислоты на двухмерной хроматограмме вызывает сомнение, то для ее идентификации к гидролизату добавляют предполагаемую аминокислоту. В случае идентичности обеих аминокислот получают усиление сомнительного пятна. Проявление хроматограммы реактивами, специфическими для отдельных аминокислот, также дает возможность идентифицировать их более точно.

Из всех растворителей, испытанных до настоящего времени, коллидин является самым лучшим вторым растворителем для двухмерной хроматограммы, тогда как фенол в большинстве случаев является лучшим растворителем для одномерной хроматограммы. Основными свойствами коллидина, определяющими его как чрезвычайно удачный второй растворитель, являются: 1) увеличение скорости движения оксиаминокислот по отношению к их скорости в феноле; 2) сильное замедление скорости

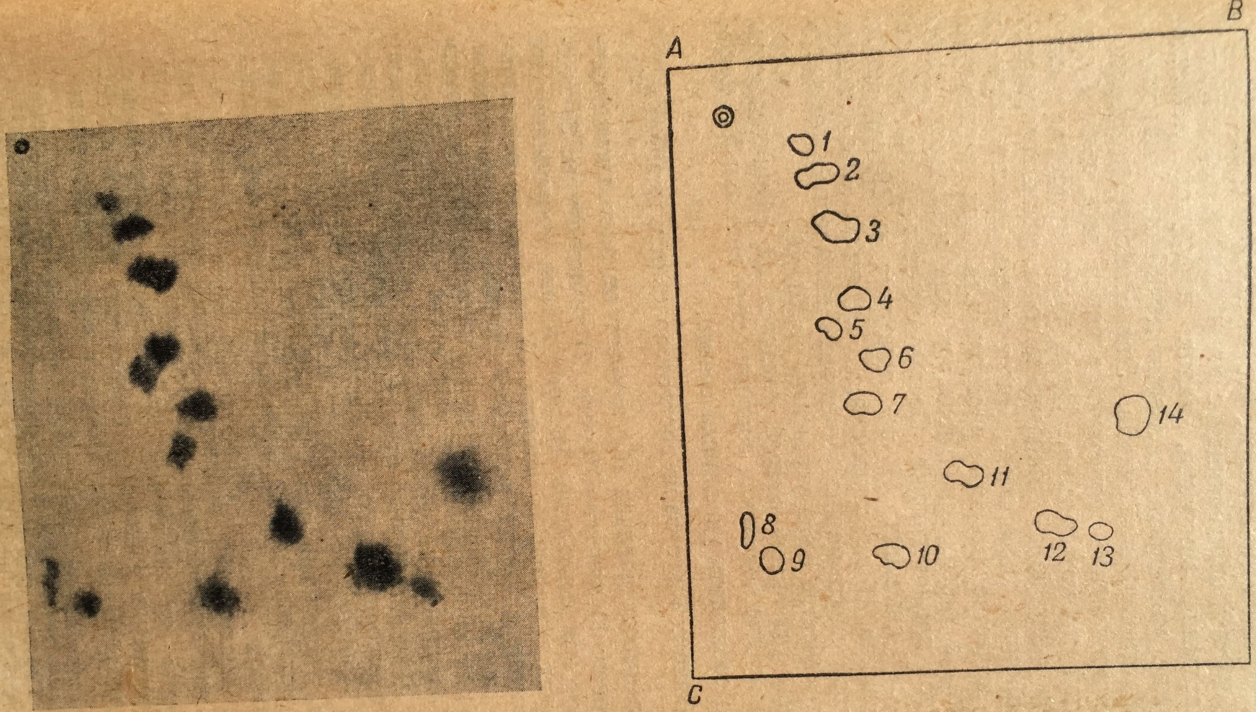


Рис. 7. Двухмерная хроматограмма гидролизата шерсти (180 микрограмм) на ватманской фильтровальной бумаге № 1. Капля гидролизата помещена в кружочек наверху. Движение в коллидине в направлении *AB* в течение 3 дней, затем движение в феноле в направлении *AC* в течение 27 час. в атмосфере 0,3% NH_3. Взято 0,3 *мг* белка. Желтое пятно пролина не видно на фотографии.

o — место нанесения гидролизата; *1* — цистеин (разл.); *2* — аспарагиновая кислота; *3* — глютаминовая кислота; *4* — серин; *5* — глицин; *6* — треонин; *7* — аланин; *8* — валин; *9* — тирозин; *10* — лизин; *11* — аргинин; *12* — пролин; *13—14* — лейцин + изолейцин + фенилаланин.

движения основных аминокислот, что позволяет отделить их от других аминокислот, занимающих с ними одно положение в феноле (фенилаланин, метионин, валин и группа лейцинов); 3) равномерное увеличение скорости движения аминокислот, являющихся гомологами глицина. Эти свойства коллидина и вызывают распределение аминокислот через весь лист бумаги на двухмерной хроматограмме. Нами была подобрана смесь пиридина (или α-пиколина), хинолина и воды, удовлетворяющая основным свойствам коллидина. Такая смесь может заменять коллидин в качестве второго растворителя для двухмерной хроматографии, а также использоваться для некоторых целей для одномерной хроматографии. Состав смесей: 1) на 100 *см*³ смеси из 70 *см*³ пиколина, 11 *см*³ хинолина и 19 *см*³ воды; 2) 66 *см*³ пиридина, 17 *см*³ хинолина, 17 *см*³ воды. Для плотных бумаг во второй смеси можно уменьшить количество хинолина до 14 *см*³, а количество воды увеличить до 20 *см*³.

Недостатком указанных смесей является их смешиваемость с водой. Поэтому для получения совпадающих величин R_F необходимо строго соблюдать указанный состав.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ НА ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ВЕЛИЧИН R_F

Воспроизводимость величин R_F зависит от постоянства следующих факторов: 1) качества бумаги, 2) температуры, 3) присутствия кислот или оснований, 4) присутствия неорганических солей или других чужеродных веществ, 5) снабжения растворителем, 6) расстояния между начальной точкой и источником растворителя. Точное соблюдение всех вышеуказанных факторов от опыта к опыту необходимо для получения хороших результатов. Бумаги различной плотности дают широко различающиеся величины R_F. Неоднородность бумаги вызывает неравномерность течения растворителя, что также является причиной колебания в R_F. Температура вызывает изменение соотношения между фазами, увеличивая или уменьшая их взаимную насыщенность. Эти колебания иногда оказывают значительное влияние на величины R_F *.

Добавление кислот или оснований сильно сказывается на величинах R_F для дикарбоновых и основных аминокислот и мало сказывается на движении моноаминомонокарбоновых кислот. Эти изменения связаны с изменением степени диссоциации указанных аминокислот. Поэтому для лучшего разде-

* Например в системе фенол — вода повышение температуры увеличивает взаимную растворимость компонентов, в системе коллидин — вода наблюдается обратное явление. Поэтому надо строго следить за постоянством температуры во время хроматографии (особенно при работе с коллидином) и принимать специальные меры для предотвращения ее колебаний.

ления отдельных аминокислот, в чашку, стоящую на дне камеры, добавляют кислоты или основания. Например, добавление в атмосферу 0,1—3% NH_3 уменьшает величину R_F для глютаминовой и аспарагиновой кислот и увеличивает R_F для основных аминокислот; добавление в атмосферу 1—2% HCl вызывает обратное явление.

Присутствие в гидролизате или в аминокислотной смеси больших количеств неорганических солей искажает хроматограмму. Это объясняется тем, что соль, притягивая воду из атмосферы и растворителя, вызывает местное накопление воды в бумаге, в результате чего аминокислоты трудно вымываются из этих участков. Поэтому необходимо тщательное удаление HCl из гидролизата или предварительное обессоливание раствора. Если обессоливание раствора затруднительно, то бумагу пропитывают солевым раствором и употребляют растворитель и атмосферу, насыщенные солевым раствором вместо воды. Это вызывает некоторое ослабление окраски аминокислот с нингидрином.

Очень важно поддерживание атмосферы, насыщенной парами воды и растворителя. Колебания R_F могут быть вызваны тем, что бумага будет недосыщена или пересыщена водой (неплотно пригнанная крышка к камере). Количество аминокислоты мало сказывается на величинах R , однако скорость движения данной аминокислоты может изменяться в присутствии другой аминокислоты.

Для поддерживания постоянства R_F необходимо наносить исследуемые растворы всегда на одном и том же расстоянии от края бумаги.

При соблюдении постоянства всех вышеуказанных факторов, различия R_F для одних и тех же аминокислот в одном опыте не должны превышать $\pm 4\%$. Значения R_F, измеренные в различных опытах, могут значительно отличаться друг от друга. Однако отношение скоростей очень постоянно, и если в одном опыте аминокислоту нельзя идентифицировать по абсолютному значению R_F, то это можно сделать с уверенностью при сравнении с R_F других аминокислот на одной и той же полосе. Трудно отличить две аминокислоты, если величины их R_F не отличаются больше, чем на 10%.

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ХРОМАТОГРАФИИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НА БУМАГЕ
(*Williams* и *Kirby* [13]).

Вильямс и Кирби модифицировали метод Консдена с сотрудниками [9], употребив так называемую «восходящую» бумажную хроматограмму. Метод использует поднятие растворителя

силами капиллярного натяжения при сохранении прежнего принципа. В подобной модификации метод проще, дает более четкие константы (R_F) и особенно удобен для большого числа анализов. Все оборудование, необходимое для метода, состоит или из стеклянного цилиндра емкостью в 1—2 *л*, или из глиняных кувшинов емкостью до 24 *л*. При употреблении глиняных кувшинов на дно помещается плоская стеклянная чашка, в которую наливается растворитель. Кувшин или цилиндр во время хроматографии плотно прикрывают стеклянной крышкой. Размер листа фильтровальной бумаги определяется поставленной задачей, высотой цилиндра и плотностью бумаги. Исследуемые растворы наносят на расстоянии 5 *см* от того края бумаги, который будет погружен в растворитель. Бумагу свертывают в трубку, причем края ее или скрепляют проволочными скрепками, или сшивают, но таким образом, чтобы они не касались друг друга. Такой бумажный «цилиндр» ставят вертикально в стеклянный цилиндр, на дно которого налит водонасыщенный растворитель. Исследуемые растворы должны быть вблизи дна цилиндра. Растворитель поднимается вверх по бумаге и вызывает распределение исследуемых веществ согласно их коэфициентам распределения. Когда растворитель пройдет нужную дистанцию, бумажный цилиндр вынимают, высушивают и обрабатывают нингидрином, как и в случае «нисходящих» хроматограмм.

Авторы дают таблицу величин R_F, которые оказываются немного ниже соответствующих «нисходящих» R_F. Стеклянный цилиндр пригоден также и для выполнения двухмерной хроматограммы. В этом случае употребляется квадратный лист бумаги (30 *см*^{2} или больше). Исследуемый раствор помещают в углу листа на расстоянии 3 *см* от обоих краев бумаги. Лист свертывают в трубку, скрепляют проволокой и опускают в цилиндр или кувшин подходящего размера, где налит первый растворитель. После высушивания лист свертывают в другом направлении и погружают в новый цилиндр, с другим растворителем, после чего следуют обычная обработка бумаги и проявление. Как указывают авторы, «восходящая» хроматограмма значительно чище «нисходящей». Однако эта модификация ни в какой мере не снижает значения основного метода [9]. В частности, недостатком метода является невозможность насыщения атмосферы кислотами или основаниями, что очень важно для лучшего разгона аминокислот.

Проявление аминокислот на хроматограмме. Нингидрин является наиболее общим и наиболее чувствительным индикатором. 0,1% раствор нингидрина в водонасыщенном *н*-бутиловом спирте обычно достаточен для определения 1—2 γ (гамма) аминокислоты. В тех случаях, когда количество аминокислоты

очень незначительно или она дает слабую окраску с нингидрином, увеличение концентрации нингидрина до 0,25% вдвое усиливает окраску. Нингидрин мало чувствителен к следам растворителя в бумаге. Однако он специфичен не только для аминокислот; пептиды, не α-аминокислоты, эфиры аминокислот, азотистые основания дают с ним окраску. Поэтому бумагу иногда необходимо обработать другими реактивами, чтобы убедиться в присутствии предполагаемых аминокислот. Для проведения этих реакций необходимо иметь дубликаты хроматограмм.

а) Для открытия на бумаге веществ, имеющих свободные SH или- S—S-группы (цистин *, глютатион, пептиды цистина), на бумагу из кончика капиллярной трубки наносят раствор от 2 до 4% KCN таким образом, чтобы вся площадь бумаги была обработана этим раствором в виде решетки. Затем бумага опрыскивается из пульверизатора свеже приготовленным 3% водным раствором нитропруссида натрия. Моментально появляются красные пятна. Пятна обводятся карандашом, и бумага отмывается под водопроводом для удаления KCN. Бумага высушивается и сохраняется для расчета величин R_F.

б) Триптофан, кинуренин, антраниловая кислота могут быть открыты при опрыскивании бумаги 2% раствором *о*-диметиламинобензальдегида в 10—15% HCl. Моментально появляются желтые пятна кинуренина и антраниловой кислоты и через некоторое время — лиловое пятно триптофана. Появление окраски от триптофана можно ускорить при нагревании бумаги в течение 4—5 мин. в сушильном шкафу при 100°.

в) Аргинин дает на бумаге реакцию Сакагуши (очень чувствительная). Бумагу обрабатывают сначала 0,14% раствором α-нафтола в 0,5 н. NaOH, высушивают и вторично опрыскивают или концентрированным раствором NaOCl или раствором NaOBr (2 *г* брома растворяют при сильном охлаждении в 50 *см*³ 5% NaOH).

г) *Алифатические* β-оксиаминокислоты. Они обнаруживаются на бумаге иодной кислотой в сочетании с реактивом Несслера. Реактив приготовляют следующим образом: реактив Несслера прибавляют к твердой HIO_4 до образования первого растворяющегося осадка.

β-Оксиаминокислоты открываются в виде медленно появляющихся темнокоричневых пятен.

д) Ароматические диоксиаминокислоты (гидрохинон-аланин и 3,4-диоксифенилаланин) обнаруживаются на бумаге после

---

* Цистеин разрушается при хроматографии. Цистин стабилен в среде, содержащей в атмосфере 1—2% HCl. Для идентификации цистина или цистеина в гидролизате последний обрабатывают прямо на бумаге 2—3 микролитрами 30% H_2O_2. Образуется очень стабильная цистиновая кислота.

26 Зак. 4624. Блок и Боллинг.

ТАБЛИЦА ВЕЛИЧИН R_F ДЛЯ АМИНОКИСЛОТ В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ НА ФИЛЬТРОВАЛЬНОЙ БУМАГЕ ВАТМАН № 1 (ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ) [12]

Растворитель	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	s-Коллидин	*н*.-Бутанол	Бутанол	*трет*.-Амиловый спирт	Бензиловый спирт	1 : 1 бутанол бензиловый спирт	*о*-Крезол	*о*-Крезол	*м*-Крезол	*м*-Крезол	*п*-Крезол	*п*-Крезол	Изомасляная кислота
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Добавления	HCN[б]	3% NH_3[а]	0,1% NH_3	светильный газ	купрон[в]	—	купрон	3% NH_3[а]	—	—	HCN[б]	купрон[в]	купрон[а] + 0,1% NH_3	купрон[в]	купрон[в] + 0,1% NH_3[а]	купрон[в]	купрон[в] 0,1% NH_3[а]	
Глицин	0,40 кл	0,40 кл	0,41	0,40	0,42	0,25 л	0,05	0,05	0,07 л	0,02	0,03 л	0,07	0,07	0,12	0,14 с	0,15 кл	0,19	0,36
Аланин	0,54 л	0,54 л	0,55	0,57	0,59	0,32 л	0,08	0,09	0,10 л	0,03	0,05 л	0,13	0,15	0,23 л	0,24 г	0,28	0,32	0,44
Норвалин	0,81 л	0,79 л	0,78	0,78	0,80	0,48 л	0,26	0,31	0,23 л	0,12	0,19 л	0,45	0,45	0,60 г	0,62 г	0,66 гл	0,66	0,71
Валин	0,77 л	0,76 л	0,76	0,78	0,77	0,45 л	0,20	0,22	0,18 гл	0,11	0,15 л	0,41	0,38	0,52 л	0,54 л	0,59 гл	0,60	0,65
Норлейцин	0,88 л	0,85 л	0,87	0,85	0,89	0,60 л	0,47	0,51	0,42 л	0,27	0,36 л	0,72	0,67	0,80 л	0,78 л	0,82 лг	0,80	0,79
Изолейцин	0,86 л	0,81 л	0,87	0,82	0,86	0,54 л	0,37	0,40	0,31 л	0,18	0,27 л	0,58	0,55	0,70 г	0,70 г	0,73 л	0,74	0,76
Лейцин	0,85 л	0,83 л	0,86	0,84	0,88	0,58 л	0,38	0,46	0,36 л	0,21	0,31 л	0,61	0,62	0,73	0,73	0,73 лг	0,77	0,78
Фенилаланин	0,89 гл	0,87 л	0,90	0,86	0,93	0,59 с	0,43	0,46	0,36 с	0,36	0,38 сг	0,81	0,74	0,82 сг	0,82 л	0,82 л	0,83	0,80
Тирозин	0,64 сл	0,63 г	0,66	0,59	0,62	0,64 с	0,28	0,14	0,24 с	0,14	0,19 с	0,24	0,23	0,35 л	0,35 л	0,39 г	0,38	0,58
Серин	0,36 л	0,33 л	0,35	0,33	0,36	0,28 с	0,05	0,05	0,08 л	0,01	0,02 л	0,05	0,05	0,08 лг	0,08 г	0,11 л	0,13	0,34
Треонин	0,50 л	0,41 л	0,47	0,50	0,50	0,32 л	0,07	0,08	0,09 л	0,02	0,04 л	0,11	0,08	0,14 г	0,14 л	0,19 л	0,21	0,43
Оксипролин	0,67 о	0,50 о	0,66	0,66	0,67	0,34 ож	0,07	0,05	0,10 о	0,04	0,05 о	0,27	0,23	0,32 сж	0,32 ж	0,40 сг	0,42	0,42
Пролин	0,91 ж	0,85 ж	0,89	0,87	0,86	0,35 ж	0,12	0,14	0,11 ж	0,12	0,12 ж	0,69	0,66	0,73 ж	0,75 ж	0,77 ж	0,78	0,57
Триптофан	0,83 г	—	—	0,76	0,86	0,62 л	0,35	—	—	—	0,30 г	0,65	0,58	0,76	0,69	0,70 г	0,68	—
Гистидин HCl	0,69 кл	0,68 г	0,70	0,72	0,69	0,28 с	0,06	0,09	0,07 с	0,02	0,03 сг	0,25	0,33	0,34 л	0,44 сл	0,36 г	0,52	0,45
Аргинин HCl	0,59 л	0,89 л	0,85	0,67	0,62	0,16 л	0,03	0,05	0,02 л	0,01	0,01 л	0,02	0,44	0,07 л	0,76 л	0,12 лг	0,81	0,40
Орнитин HCl	0,33 л	0,73 л	0,61	0,40	0,37	0,13 сг	0,01	0,03	0,02 л	0,00	0,00 л	0,01	0,21	0,03 л	0,47 л	0,04 л	0,59	0,24
Лизин HCl	0,46 л	0,82 л	0,73	0,50	0,48	0,14 сг	0,01	0,03	0,02	0,00	0,01 л	0,01	0,20	0,04 л	0,54 л	0,07 лг	0,66	0,27
Аспарагиновая кислота	0,15 гл	0,12 г	0,12	0,14	0,17	0,22 г	0,01	0,01	0,02 лг	0,00	0,00 л	0,00	0,00	0,01 кл	0,01 г	0,02 лг	0,02	0,31
Глютаминовая кислота	0,25 л	0,13 л	0,19	0,24	0,28	0,25 л	0,01	0,01	0,02 л	0,00	0,01 л	0,01	0,01	0,01 л	0,02 г	0,03 лг	0,03	0,38
Лантионин HCl	0,20 кл	0,19 с	0,21	0,18	0,20	0,12	0,01	0,00	0,03 кс	0,00	0,00 л	0,01	0,01	0,01 к	0,03 лк	0,03 кг	0,05	0,21
Цистин HCl	0,30 кл	0,24 жс	0,13	0,13	0,29	0,14	0,01	0,01	0,02 кс	0,00	0,00 л	0,02	0,01	0,04 л	0,04	0,02 кп	0,02	0,25
Метионин	0,80 л	0,76 л	0,83	0,82	0,81	0,57 сл	0,26	0,05	0,27 л	0,17	0,21 л	0,58	0,49	0,64 г	0,63 л	0,71 лг	0,68	0,69

а Указанная концентрация NH_3 относится к его раствору, находящемуся в чашке на дне камеры.

б В чашку на дно камеры добавляется несколько кристаллов KCN. Камера герметически закрыта.

в Кристаллический купрон (α-бензоилоксим) добавляется в растворитель (0,1%).

Обозначение окраски аминокислот с нингидрином:
л — лиловая; о — оранжевая;
г — голубая; к — красная;
ж — желтая; с — серая.

ТАБЛИЦА ВЕЛИЧИН R_F ДЛЯ АМИНОКИСЛОТ В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ НА ФИЛЬТРОВАЛЬНОЙ БУМАГЕ ВАТМАН № 1 (ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ) [12]

Растворитель	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	s-Коллидин	*н.*-Бутанол	Бутанол	*трет.*-Амиловый спирт	Бензиловый спирт	1 : 1 бутанол бензиловый спирт	*о*-Крезол	*о*-Крезол	*м*-Крезол	*м*-Крезол	*п*-Крезол	*п*-Крезол	Изомасляная кислота
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Добавления	HCN[б]	3% NH_3[а]	0,1% NH_3	светильный газ	купрон[в]	—	купрон	3% NH_3[а]	—	—	HCN[б]	купрон[в]	купрон[а] +0,1% NH_3	купрон[в]	купрон[в] +0,1% NH_3[а]	купрон[в]	купрон[в] 0,1% NH_3[а]	
Глицин	0,40 кл	0,40 кл	0,41	0,40	0,42	0,25 л	0,05	0,05	0,07 л	0,02	0,03 л	0,07	0,07	0,12	0,14 с	0,15 кл	0,19	0,36
Аланин	0,54 л	0,54 л	0,55	0,57	0,59	0,32 л	0,08	0,09	0,10 л	0,03	0,05 л	0,13	0,15	0,23 л	0,24 г	0,28	0,32	0,44
Норвалин . .	0,81 л	0,79 л	0,78	0,78	0,80	0,48 л	0,26	0,31	0,23 л	0,12	0,19 л	0,45	0,45	0,60 г	0,62 г	0,66 гл	0,66	0,71
Валин	0,77 л	0,76 л	0,76	0,78	0,77	0,45 л	0,20	0,22	0,18 гл	0,11	0,15 л	0,41	0,38	0,52 л	0,54 л	0,59 гл	0,60	0,65
Норлейцин . .	0,88 л	0,85 л	0,87	0,85	0,89	0,60 л	0,47	0,51	0,42 л	0,27	0,36 л	0,72	0,67	0,80 л	0,78 л	0,82 лг	0,80	0,79
Изолейцин . .	0,86 л	0,81 л	0,87	0,82	0,86	0,54 л	0,37	0,40	0,31 л	0,18	0,27 л	0,58	0,55	0,70 г	0,70 г	0,73 л	0,74	0,76
Лейцин	0,85 л	0,83 л	0,86	0,84	0,88	0,58 л	0,38	0,46	0,36 л	0,21	0,31 л	0,61	0,62	0,73	0,73	0,73 лг	0,77	0,78
Фенилаланин .	0,89 гл	0,87 л	0,90	0,86	0,93	0,59 с	0,43	0,46	0,36 с	0,36	0,38 сг	0,81	0,74	0,82 сг	0,82 л	0,82 л	0,83	0,80
Тирозин . . .	0,64 сл	0,63 г	0,66	0,59	0,62	0,64 с	0,28	0,14	0,24 с	0,14	0,19 с	0,24	0,23	0,35 л	0,35 л	0,39 г	0,38	0,58

Серин	0,36 л	0,33 л	0,35	0,33	0,36	0,28 с	0,05	0,05	0,08 л	0,01	0,02 л	0,05	0,05	0,08 лг	0,08 г	0,11 л	0,13	0,34
Треонин . . .	0,50 л	0,41 л	0,47	0,50	0,50	0,32 л	0,07	0,08	0,09 л	0,02	0,04 л	0,11	0,08	0,14 г	0,14 л	0,19 л	0,21	0,43
Оксипролин .	0,67	0,50	0,66	0,66	0,67	0,34	0,07	0,05	0,10 о	0,04	0,05 о	0,27	0,23	0,32 сж	0,32 ж	0,40 сг	0,42	0,42

ТАБЛИЦА ВЕЛИЧИН R_F ДЛЯ АМИНОКИСЛОТ В РАЗЛИЧНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ НА ФИЛЬТРОВАЛЬНОЙ БУМАГЕ ВАТМАН № 1 (ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ) [12]

Растворитель	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	Фенол	s-Коллидин	*н.*-Бутанол	Бутанол	*трет.*-Амиловый спирт	Бензиловый спирт	1 : 1 бутанол бензиловый спирт	*о*-Крезол	*о*-Крезол	*м*-Крезол	*м*-Крезол	*п*-Крезол	*п*-Крезол	Изомасляная кислота
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Добавления	HCN[б]	3% NH_3[а]	0,1% NH_3	светильный газ	купрон[в]	—	купрон	3% NH_3[а]	—	—	HCN[б]	купрон[в]	купрон[а] + 0,1% NH_3	купрон[в]	купрон[в] + 0,1% NH_3[а]	купрон[в]	купрон[в] 0,1% NH_3[а]	
Глицин	0,40 кл	0,40 кл	0,41	0,40	0,42	0,25 л	0,05	0,05	0,07 л	0,02	0,03 л	0,07	0,07	0,12	0,14 с	0,15 кл	0,19	0,36
Аланин	0,54 л	0,54 л	0,55	0,57	0,59	0,32 л	0,08	0,09	0,10 л	0,03	0,05 л	0,13	0,15	0,23 л	0,24 г	0,28	0,32	0,44
Норвалин . .	0,81 л	0,79 л	0,78	0,78	0,80	0,48 л	0,26	0,31	0,23 л	0,12	0,19 л	0,45	0,45	0,60 г	0,62 г	0,66 гл	0,66	0,71
Валин	0,77 л	0,76 л	0,76	0,78	0,77	0,45 л	0,20	0,22	0,18 гл	0,11	0,15 л	0,41	0,38	0,52 л	0,54 л	0,59 гл	0,60	0,65
Норлейцин . .	0,88 л	0,85 л	0,87	0,85	0,89	0,60 л	0,47	0,51	0,42 л	0,27	0,36 л	0,72	0,67	0,80 л	0,78 л	0,82 лг	0,80	0,79
Изолейцин . .	0,86 л	0,81 л	0,87	0,82	0,86	0,54 л	0,37	0,40	0,31 л	0,18	0,27 л	0,58	0,55	0,70 г	0,70 г	0,73 л	0,74	0,76
Лейцин	0,85 л	0,83 л	0,86	0,84	0,88	0,58 л	0,38	0,46	0,36 л	0,21	0,31 л	0,61	0,62	0,73	0,73	0,73 лг	0,77	0,78
Фенилаланин .	0,89 гл	0,87 л	0,90	0,86	0,93	0,59 с	0,43	0,46	0,36 с	0,36	0,38 сг	0,81	0,74	0,82 сг	0,82 л	0,82 л	0,83	0,80
Тирозин . . .	0,64 сл	0,63 г	0,66	0,59	0,62	0,64 с	0,28	0,14	0,24 с	0,14	0,19 с	0,24	0,23	0,35 л	0,35 л	0,39 г	0,38	0,58

Тирозин . . .	0,64 сл	0,63 г	0,66	0,59	0,62	0,64 с	0,28	0,14	0,24 с	0,14	0,19 с	0,24	0,23	0,35 л	0,35 л	0,39 г	0,38	0,58
Серин	0,36 л	0,33 л	0,35	0,33	0,36	0,28 с	0,05	0,05	0,08 л	0,01	0,02 л	0,05	0,05	0,08 лг	0,08 г	0,11 л	0,13	0,34
Треонин . . .	0,50 л	0,41 л	0,47	0,50	0,50	0,32 л	0,07	0,08	0,09 л	0,02	0,04 л	0,11	0,08	0,14 г	0,14 л	0,19 л	0,21	0,43
Оксипролин .	0,67 о	0,50 о	0,66	0,66	0,67	0,34 ож	0,07	0,05	0,10 о	0,04	0,05 о	0,27	0,23	0,32 сж	0,32 ж	0,40 сг	0,42	0,42
Пролин	0,91 ж	0,85 ж	0,89	0,87	0,86	0,35 ж	0,12	0,14	0,11 ж	0,12	0,12 ж	0,69	0,66	0,73 ж	0,75 ж	0,77 ж	0,78	0,57
Триптофан . .	0,83 г	—	—	0,76	0,86	0,62 л	0,35	—	—	—	0,30 г	0,65	0,58	0,76	0,69	0,70 г	0,68	—
Гистидин HCl .	0,69 кл	0,68 г	0,70	0,72	0,69	0,28 с	0,06	0,09	0,07 с	0,02	0,03 сг	0,25	0,33	0,34 л	0,44 сл	0,36 г	0,52	0,45
Аргинин HCl .	0,59 л	0,89 л	0,85	0,67	0,62	0,16 л	0,03	0,05	0,02 л	0,01	0,01 л	0,02	0,44	0,07 л	0,76 л	0,12 лг	0,81	0,40
Орнитин HCl .	0,33 л	0,73 л	0,61	0,40	0,37	0,13 сг	0,01	0,03	0,02 л	0,00	0,00 л	0,01	0,21	0,03 л	0,47 л	0,04 л	0,59	0,24
Лизин HCl . .	0,46 л	0,82 л	0,73	0,50	0,48	0,14 сг	0,01	0,03	0,02	0,00	0,01 л	0,01	0,20	0,04 л	0,54 л	0,07 лг	0,66	0,27
Аспарагиновая кислота . .	0,15 гл	0,12 г	0,12	0,14	0,17	0,22 г	0,01	0,01	0,02 лг	0,00	0,00 л	0,00	0,00	0,01 кл	0,01 г	0,02 лг	0,02	0,31
Глютаминовая кислота . .	0,25 л	0,13 л	0,19	0,24	0,28	0,25 л	0,01	0,01	0,02 л	0,00	0,01 л	0,01	0,01	0,01 л	0,02 г	0,03 лг	0,03	0,38
Лантионин HCl	0,20 кл	0,19 с	0,21	0,18	0,20	0,12	0,01	0,00	0,03 кс	0,00	0,00 л	0,01	0,01	0,01 к	0,03 лк	0,03 кг	0,05	0,21
Цистин HCl .	0,30 кл	0,24 жс	0,13	0,13	0,29	0,14	0,01	0,01	0,02 кс	0,00	0,00 л	0,02	0,01	0,04 л	0,04	0,02 кп	0,02	0,25
Метионин . .	0,80 л	0,76 л	0,83	0,82	0,81	0,57 сл	0,26	0,05	0,27 л	0,17	0,21 л	0,58	0,49	0,64 г	0,63 л	0,71 лг	0,68	0,69

[а] Указанная концентрация NH_3 относится к его раствору, находящемуся в чашке на дне камеры.

[б] В чашку на дно камеры добавляется несколько кристаллов KCN. Камера герметически закрыта.

[в] Кристаллический купрон (α-бензоилоксим) добавляется в растворитель (0,1%).

Обозначение окраски аминокислот с нингидрином:
л — лиловая; о — оранжевая;
г — голубая; к — красная;
ж — желтая; с — серая.

опрыскивания ее 0,1% водным раствором $AgNO_3$. Появляются темные пятна.

Кроме того, 3,4-диоксифенилаланин дает на бумаге реакцию Арнау *, по которой его можно отличить от 2,5-диоксифенилаланина.

е) Дикетопиперазины проявляются раствором 1,5—2% 3,5-динитробензойной кислоты в насыщенном растворе соды. Реакция развивается при прогревании бумаги от 5 до 10 мин. в сушильном шкафу при 110°. Фиолетово-красные пятна. Реакция требует не менее 20—30 γ ангидрида.

ж) Гистидин и тирозин. Бумага обрабатывается 0,1—0,2% раствором диазотированной сульфаниловой кислоты в 1 н. Na_2CO_3. Гистидин дает яркокрасную окраску (5 γ), тирозин золотисто-коричневую (10 γ). Реакция получается хорошо после проявления полосы в коллидине. Предварительная обработка бумаги нингидрином не мешает реакции.

з) Для идентификации низших пептидов, наряду с таблицей величин R_F существуют и другие, более точные методы их определения, подробно указанные в работах [14, 15].

В принципе эти методы сводятся к следующему. Пептиды накапливают на бумаге (нанесением целого ряда сближенных пятен), вымывают из бумаги водой после хроматографии, водный раствор сгущают под вакуумом досуха, добавляют 10—25 микролитров 6 н. HCl и гидролизуют 24 часа в запаянном капилляре. Затем содержимое капилляра переносят на часовое стекло, HCl удаляют в вакуум-эксикаторе над щелочью и остаток растворяют в 5—10 μl воды. Этот раствор переносят на новую бумажную хроматограмму. Полученные пятна характеризуют аминокислотный состав пептида.

При получении динитрофенилпроизводных или при дезаминировании свободной NH_2-группы пептида азотистой кислотой, определяют, какой аминокислоте принадлежит свободная NH_2-группа пептида.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

За последний год предложен целый ряд методов количественного определения аминокислот, обнаруженных после разделения на бумаге. Существует метод [16] сравнения интенсивности окраски и размера обнаруженных пятен со шкалой стандартных пятен, полученных от хроматографии определенного количества стандартной аминокислоты на этой же полосе бумаги. Однако эти определения дают только приблизительный результат.

---

* При пульверизации бумаги раствором нитрит-молибдата в 0,25 н. HCl появляются желтые пятна. Окраска переходит в красную при последующих пульверизациях бумаги 1 н. NaOH.

Также очень неточен метод экстракции окраски пятна от нингидрина ацетоном [16] и последующего колориметрического определения густоты окраски в колориметре. Действительного внимания заслуживает метод Войвода (Woiwod) [17, 18], представляющий собой модификацию метода Попа и Стивенса [19] для определения α-NH_2-азота аминокислот и пептидов. Метод оказался пригодным для определения микроколичеств (1—25 γ) NH_2-азота.

Принцип метода. Аминокислоты, экстрагированные из бумаги водой или буферным раствором, образуют растворимый медный комплекс при реакции с фосфатом меди. После отделения избытка фосфата меди фильтрованием медный комплекс количественно разлагается Na-солью диэтилдитиокарбаминовой кислоты. Образующаяся желтая медная соль этой кислоты количественно экстрагируется из водного раствора амиловым спиртом. Оптическая густота окраски определяется или в Спеккеровском абсорбциометре или в фотометре Пульфриха. Теоретическая величина отношения $\frac{\alpha\text{-}NH_2\text{-азота}}{Cu} = 0{,}44$. Однако установлено, что аминокислоты отклоняются от этой теоретической величины. Поэтому на практике для каждой аминокислоты устанавливается своя стандартная кривая, и эквивалент найденного количества меди относится по этой кривой к количеству α-NH_2-азота. Необходимость вычерчивать для каждой аминокислоты свою стандартную кривую является недостатком метода.

Как указывает Войвод, для аминокислот — метионина, оксипролина, аспарагиновой кислоты, лейцина, изолейцина, гистидина, фенилаланина, глютаминовой кислоты, триптофана и тирозина — отношение $\frac{\alpha\text{-}NH_2\text{-азота}}{Cu}$ лежит в пределах от 0,50—0,55. У аланина, глицина, треонина, серина, цистеина, цистина отношение лежит между 0,50—0,80. У лизина, аргинина, глюкозамина — 1, 1,25 и 1,60.

Метод определяет 94—97% аминокислоты, содержащейся в пятне на бумаге. Если употреблять 0,01—0,02% раствор нингидрина для определения позиции аминокислоты на бумаге, что дает возможность избежать дубликатных хроматограмм, и пользоваться не только одномерной, но и двухмерной хроматограммами, то выход аминокислот составляет 90—91%. В этих случаях должна быть внесена поправка на разрушение 2—3% α-NH_2-азота при реакции с нингидрином.

Реактивы. Фосфат меди. 1 объем 0,16 M $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ добавляют к 1 объему Na_3PO_4, приготовленному по Попу и Стивенсу. Полученный фосфат меди нагревают с обратным холодильником в течение 30 мин. с 2 объемами 0,18 M $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$. Полученный реактив стабилен в течение нескольких недель. Реактив

годен к употреблению только через несколько дней после приготовления. Выстоявший в течение нескольких дней фосфат меди не содержит следов растворимой меди в фильтрате.

Приготовление Na_3PO_4. 64,5 Na_2HPO_4 растворяют в 500 *см*³ дистиллированной воды, свободной от CO_2. К раствору добавляют 7,2 *г* NaOH. После растворения объем доводят до 1 *л* (1000 *см*³).

Проведение определения. Вырезают участок бумаги, содержащий определяемую аминокислоту (этот участок определяется или после проявления дубликата, или после проявления хроматограммы 0,01% раствором нингидрина). Бумагу помещают в пробирку и заливают 1 *см*³ 0,18 М $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, содержащим 0,4% буры. Экстрагируют 1—2 часа. Затем добавляют 1 *см*³ медно-фосфатной суспензии. Через 30 мин. избыток меди отфильтровывают через плотный фильтр на маленькой воронке Бюхнера с вакуумной пробиркой в качестве приемника (следить, чтобы фосфат меди не проскочил при фильтровании через фильтр). Фильтрат количественно переносят в маленькую делительную воронку, к нему добавляют 0,5 *см*³ 2% водного раствора Na-диэтилдитиокарбамата. Образующуюся желтую окраску экстрагируют 4—5 *см*³ чистого амилового спирта. Слой амилового спирта сливают через сухой фильтр в пробирку и фотометрируют против контрольного определения на Спеккеровском абсорбциометре. Контрольное определение производят на участке бумаги одинаковой площади с опытным, подвергнутым хромотографии и всем последующим операциям.

МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ВОЙВОДА

Джонес [20] модифицировал метод Войвода для определения малых количеств α-NH_2-азота аминокислот. Фосфат меди, разбавленный равным объемом 0,18 М Na_2HPO_4, добавляют к малому объему раствора аминокислот. Избыток меди удаляют фильтрованием и, после удаления из раствора растворенного кислорода, количество меди, связанной в комплексе с аминокислотой, определяют полярографически. Полярограмма вычерчивается также и для разбавленного контрольного раствора, который подвергался всем вышеуказанным операциям.

ПРИМЕЧАНИЯ К ГЛАВЕ X

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ
альбумина *крови человека* [21]

Общий азот 16,1%

Аминокислота	%	Метод определения
Гликоколь	(0,3)	Паттон
Аланин	3,36	Фромажо — Хайтц
Лейцин	16,3	Дэкин, Барнетт, Бергман, Штайн

Продолжение

Аминокислота	%	Метод определения
Изолейцин	3,4	Дэкин, Бразье
Валин	(1,2)	Дэкин, Бразье
Серин	1,2	Фромажо — Хайтц
Треонин	2,2	Блок и Боллинг
Аспарагиновая кислота	4,67	Джонс и Мёллер
Глютаминовая кислота	9,95	Джонс и Мёллер
Оксиглютаминовая кислота	(0,5)	Джонс и Мёллер
Фенилаланин	5,11	Капеллер — Адлер
Тирозин	5,2	Фолин — Лагг
Лизин	11,5	
Аргинин	5,3	Сакагучи — Вебер
Гистидин	2,5	Капеллер — Адлер
Триптофан	0,96	Фюрт
Пролин	2,51	Дэкин
Оксипролин	2,98	Дэкин
Цистин	5,1	Фолин — Маренци
Метионин	0,77	Барнштейн

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

белков мышц

Высчитано на 16% азота

Источники	Азот	Цистин	Метионин	Тирозин	Аргинин	Гистидин	Лизин	Глютаминовая кислота	Аспарагиновая кислота
Человек [22]	15,05	1,07	3,44	3,79	6,91	2,40	9,09	17,2	—
Человек мужчина [23]		1,82	—	4,14	6,64	2,42	8,10		
„ женщина [23]	—	1,70	—	4,33	6,94	2,54	6,13	—	—
Бык [24]		1,20	—	4,42	7,21	3,49	7,81	—	—
Мышь [25]		1,40	—	4,52	7,04	2,52	10,57	—	—
Человек (20-недельный плод) [22]	13,41	1,60	2,56	3,18	6,88	2,67	8,21	14,9	7,52
Человек (эмбрион) [22]	13,48	1,57	2,65	3,13	6,41	2,86	8,39	14,9	

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

белков костей и хряща человека [22]

Высчитано на 16% азота

Белок	Азот	Цистин	Метионин	Тирозин	Аргинин	Гистидин	Лизин	Глютаминовая кислота	Аспарагиновая кислота
Кость	9,22	1,02	1,08	1,78	7,45	—	5,02	11,8	
Хрящ	11,91	2,00	1,14	2,53	6,88	1,84	5,08	12,3	
Хрящ (20-недельный плод)	8,83	2,34	1,66	1,81	7,07	1,66	5,42	15,9	6,67
Хрящ (эмбрион)	9,51	2,33	1,68	1,87	7,14	1,88	5,45	14,2	

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ
белков кожи

Высчитано на 16% азота

Источники	Азот	Цистин	Метионин	Тирозин	Аргинин	Гистидин	Лизин	Глютаминовая кислота	Фенилаланин	Триптофан	Аспарагиновая кислота
Человек [22]	15,71	0,62	0,93	1,38	7,16	—	4,75	10,7	—	—	—
Человек (эпидермис) [26]	15,14	1,42	1,60	4,05	6,71	2,64	5,92	—	4,78	1,02	—
Человек (дерма) [26]	15,32	0,51	1,22	1,27	7,16	0,97	4,17	—	2,76	0,24	—
Кролик [26]	15,02	—	—	—	7,68	0,94	4,59	—	—	—	—
Кролик (рак. опухоль) [26]	15,07	—	—	—	7,68	0,84	4,35	—	—	—	—
Человек (20-недельный плод)	13,64	1,92	1,92	2,82	6,91	2,60	7,46	13,5	—	—	7,03
Человек (эмбрион)[22]	13,93	1,83	2,09	2,82	7,02	2,81	7,16	14,0	—	—	—

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ
органов человека [22]

Высчитано на 16% азота

Орган	Азот	Цистин	Метионин	Тирозин	Аргинин	Гистидин	Лизин	Глютаминовая кислота	Аспарагиновая кислота
Печень	14,15	1,61	3,25	3,76	6,37	3,75	8,10	14,7	—
Печень (20-недельный плод)	14,20	1,41	2,58	2,92	5,88	3,58	8,07	10,7	7,12
Печень (эмбрион)	14,08	1,52	2,90	2,94	5,99	3,64	7,87	10,8	—
Почка	14,73	1,59	2,60	3,64	6,40	2,26	7,65	12,6	
Почка (20-недельный плод)	13,34	1,33	—	3,72	7,30	—	8,91	—	8,24
Почка (эмбрион)	13,70	1,37	3,11	3,72	7,43	2,63	8,32	14,3	—
Легкое	14,51	1,77	2,07	4,64	5,92	—	7,57	—	—
Легкое (20-недельный плод)	13,98	1,31	2,60	3,01	6,30	3,04	7,31	10,4	7,25
Легкое (эмбрион)	14,09	1,33	2,50	2,87	6,71	3,09	7,98	12,1	—
Молочная железа	15,32	0,92	1,16	1,89	7,06	1,40	5,76	12,0	—
Яичники	15,26	1,56	1,61	2,88	6,72	1,67	8,33	12,4	—
Тестопротеин	14,78	1,62	2,11	—	6,91	2,59	8,76	13,8	—
Слизистая оболочка желудка	14,50	1,31	2,40	3,80	7,12	—	7,68	—	—
Предстательная железа	14,93	1,39	2,12	3,00	7,70	—	7,78	14,4	—

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ
белков опухолей человека [22]

Высчитано на 16% азота

Белок (происхождение)	Азот	Цистин	Метионин	Тирозин	Аргинин	Гистидин	Лизин	Глютаминовая кислота
Рак молочной железы	15,16	1,14	1,59	2,46	7,20	1,63	6,92	12,3
Рак легкого	14,43	1,55	1,88	4,64	7,32	—	7,60	—
Гипернефрома . . .	13,31	1,76	2,30	4,21	6,33	2,30	8,47	11,7
Рак желудка	14,71	1,60	2,19	3,20	6,88	—	7,53	—
Рак прямой кишки .	15,16	1,38	2,20	3,08	7,10	—	—	—
Рак мочевого пузыря	14,63	1,35	1,93	3,21	7,19	—	7,02	—
Рак яичника	14,37	1,31	2,12	3,37	7,28	2,10	7,80	13,8
Рак предстательной железы	15,11	1,21	1,90	3,00	7,26	1,61	7,45	13,1
Рак яичка (семинома)	14,39	1,59	1,57	2,92	6,98	2,47	6,45	11,5
Фолликула эпителиомы кожи	15,15	—	2,54	3,83	10,12	—	9,16	—
Фибросаркома кожи	14,93	1,68	2,58	3,55	7,08	—	8,78	—
Саркомы мягких тканей	14,99	1,75	2,52	3,33	7,21	—	8,18	—
Остео- и хондро-саркомы	14,11	1,51	1,96	2,87	6,50	3,15	7,72	13,4

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ
фиброина шелка тутового (Bombyx mori) *и дубового шелкопрядов* [27]

Аминокислоты	Фиброин шелка тутового шелкопряда (асколи), Средняя Азия	Фиброин шелка дубового шелкопряда			
		Крым			
		p′ [2]	p‴ [3]	S [4]	„Мучнистая роса“ [5]
Азот	17,93	18,45	18,68	18,98	18,74
Гликоколь	35,53	19,12	18,92	19,10	19,23
Аланин	25,43	34,61	35,84	35,82	34,84
Тирозин	12,17	9,20	9,32	9,23	9,66
Фенилаланин	1,27	0,61	0,70	0,67	0,63
Триптофан	0,62	1,42	1,42	1,39	2,10
Гистидин	0,23	1,08	1,09	0,84	1,94
Аргинин	1,54	1,06	1,05	0,97	3,77
Лизин	0,27	7,61	7,72	7,93	7,83
Оксиаминокислоты [1] .	13,95	10,65 [1]			

[1] Пересчитано на серин
[2] Коконы весенней завивки; гусеницы питались листом Quercus Pedunculata
[3] Коконы летней завивки; гусеницы питались листом Quercus Pedunculata
[4] Коконы летней завивки; гусеницы питались листом Quercus Sessiflora
[5] Коконы летней завивки; гусеницы питались листом Quercus Pedunculata, зараженным грибом „мучнистая роса“

№ 427.

ЛИТЕРАТУРА К ПРИМЕЧАНИЯМ

1. *Д. Цуверкалов*, Биох. **9**, 101 (1944)
2. *Д. Цуверкалов*, Биох. **6**, 243 (1941)
3. *Д. Цуверкалов*, *Т. Богомолова*, Биох. **13**, 426 (1948)
4. *С. Мардашев*, Микробиол. **16**, 469 (1947)
5. *С. Мардашев*, *Гладкова*, Биох. **13**, 315 (1948)
6. *А. Браунштейн*, *В. Немчинская*, *Г. Виленкина*, Биох. **11**, 501 (1946)
7. *Krebs*, Biochem. J. **31**, 2095 (1937)
8. *М. Цвет*, Адсорбционный хроматографический анализ (1946)
9. *Martin*, *Synge*, Biochem. J. **35**, 1358 (1941)
10. *Synge*, Biochem. J. **38**, 285 (1941)
11. *Stein*, *Moore*, J. biol. Chem. **176**, 337 (1948)
12. *Consden*, *Gordon*, *Martin*, Biochem. J. **38**, 224 (1944)
13. *Williams*, *Kirby*, Science **107**, 481 (1948)
14. *Consden*, *Gordon*, *Martin*, Biochem. J. **41**, 590 (1947)
15. *Dent*, Biochem. J. **41**, 240 (1947)
16. *Polson*, *Mosley*, *Wyckoff*, Science **105**, 603 (1947)
17. *Woiwod*, Biochem. J. **42**, XXVIII (1948)
18. *Woiwod*, Nature **161**, 162 (1948)
19. *Pope*, *Stevens*, Biochem. J. **33**, 1070 (1939)
20. *Jones*, Biochem. J. **42** LIX (1948)
21. *Е. Стахеева-Каверзнева*, ЖОХ **13**, 408 (1943)
22. *И. Збарский*. Диссертация 1 ММИ (1949)
23. *А. Шарпенак*, *О. Балашова*, *С. Меншутин*, *В. Добрынин*, *В. Марченко*, Биох. **10**, 89 (1945)
24. *О. Балашова*, *В. В. Львова*, *Е. Соловьева*, *А. Шарпенак*, Физиологич. журн. **17** (2), 277 (1934)
25. *Б. Збарский*, *С. Мардашев*, *И. Збарский*, Биох. **9**, 165 (1944)
26. *С. Мардашев*, Биох. **12**, 444 (1947)
27. *Е. Цинцевич*, Диссертация МГУ (1943)

БИБЛИОГРАФИЯ

основных работ по определению аминокислот,
выполненных в СССР с 1931 по 1948 г.

Методы определения

О. Балашова, *В. Львова*, *Е. Соловьева*, *А. Шарпенак*, Метод определения аминокислотного состава белков. Физиол. журн. **17**, 268 (1934).

А. Браунштейн, *С. Бычков*, Микроопределение аланина и некоторых других аминокислот посредством *п*-оксидифенила. Биох. **8**, 234 (1943).

А. Браунштейн, *В. Немчинская*, *Г. Виленкина*, Манометрическое определение малых количеств аспарагиновой кислоты. Биох. **11**, 501 (1946).

Е. Кирьянова, Гидролиз белка и гуминообразование. Биох. **6**, 280 (1941).

В. Кретович, *А. Бундель*, Хроматографическое определение дикарбоновых аминокислот в растении. ДАН **51**, 861 (1948).

Д. Леплинский, Об определении содержащих серу аминокислот. Успехи Зоотехн. наук **3**, 457 (1937).

С. Мардашев, Бактериальная декарбоксилаза *l*-аспарагиновой кислоты. Микробиол. **16**, 469 (1947).
С. Мардашев, В. Гладкова, Определение *l*-аспарагиновой кислоты при помощи бактериальной декарбоксилазы, Биох. **13**, 315 (1948).
Н. Мешкова, К методике колориметрического определения карнозина и гистидина с диазореактивом. Физиол. журн. **20**, 896 (1936).
Н. Мешкова, К вопросу о методике колориметрического определения гистидина и карнозина с бромом. Физиол. журн. **20**, 1096 (1936).
Е. Стрепков, Мавлянов, Колориметрическое микроопределение триптофана в белковых веществах. Бюлл. экспер. биол. и мед. **6**, 241 (1938).
Е. Стахеева-Каверзнева, К вопросу об определении лейцина и валина по методу Fromageot и Heitz. Биох. **5**, 513 (1940).
М. Цвет, Адсорбционный хроматографический анализ. Москва (1946).
Д. Цуверкалов, Газометрическое определение аргинина и других замещенных гуанидина. Биох. **9**, 101 (1944).
Д. Цуверкалов, Т. Богомолова, Газометрическое определение аргинина в присутствии мочевины и солей аммония. Биох. **13**, 426 (1948).

Определение аминокислотного состава в белках животного происхождения

КРОВЬ

С. Захаров, Сборн. работ по физиол. 149 (1939)
А. Раевский, Труды Сталинабадского мед. ин-та **1**, 119 (1941)
Е. Свешникова, Биох. **2**, 902 (1937)
Е. Стахеева-Каверзнева, ЖОХ **13**, 408 (1943)
Е. Стахеева-Каверзнева, ЖОХ **13**, 736 (1943)
А. Степаненко, Сборн. работ по физиол. 155 (1939)

МОЗГ

В. Боровская, Болдырева, Арх. биол. наук **37**, 493 (1935)
В. Боровская, А. Тустановский, Арх. биол. наук **37**, 491 (1935)
А. Буданова, Бюлл. экспер. биол. и мед. **1** (2) 114 (1936)
В. Дмитриев, Мед. бюлл. Ирк. мед. инст. **7**, 138 (1944)
В. Дмитриев, Мед. бюлл. Ирк. мед. инст. **8**, 89 (1948)
В. Добрынина, Физиол. журн. **29**, 220 (1941)
С. Капланский, Физиол. журн. **21**, 1056 (1936)
С. Капланский, В. Боровская, А. Буданова, Арх. биол. наук **37**, **485** (1935)
Н. Роменский, Денисова, Труды Новочеркасск. зооветеринн. инст. **7**, 41 (1940)
А. Степаненко, Сборн. работ по физиол. 155 (1938)
А. Тустановский, Биох. 3, 218 (1938)

МЫШЦЫ

О. Балашова. Влияние недостаточности в питании на аминокислотный состав белков мышц. Диссертация 2 ММИ (1948)
Ю. Вайнштейн, Сборн. работ по физиол. 168 (1939)
Г. Владимиров, А. Ярославцев. Труды Военно-медиц. акад. РККА **22**, 63, (1940)
Д. Гуревич, Физиол. журн. **27**, 615 (1939)
А. Захарова, Возрастные изменения содержания триптофана и цистина в белках мышц. Диссертация 1 Лен. мед. инст. (1940); Бюлл. экспер. биол. и мед. **17**, (1—2) 53 (1944)
И. Збарский, Диссертация 1 ММИ (1949)
А. Раевский, Труды Сталинабадского мед. инст. **1**, 119 (1941)
А. Шарпенак, О. Балашова, В. Марченков, С. Меншутин, М. Равич-Щербо, А. Фельдт, Н. Фридлянд, Физиол. журн. **17**, 1070 (1934)

А. Шарпенак, О. Балашова, С. Меншутин, В. Добрынина, В. Марченков, Биох. **10**, 89 (1945)
А. Шарпенак, Е. Ильина, О. Балашова, Биох. **11**, 133 (1946)
А. Ярославцев, Труды Военно-Медиц. акад. РККА **27**, 17 (1940)

ОРГАНЫ И ТКАНИ

О. Балашова, Влияние недостаточности белка в питании на аминокислотный состав белков печени. Диссертация 2 ММИ (1948)
И. Буланкин, М. Блюмина, Труды Научно-исслед. инст. биологии **12**, **61** (1947)
Б. Збарский, Биох. **9**, 170 (1944)
Б. Збарский, И. Збарский, С. Мардашев, Биох. **9**, 161 (1944)
Б. Збарский, И. Збарский, С. Мардашев, Биох. **9**, 165 (1944)
И. Збарский, Аминокислотный состав белков опухолей и нормальных органов человека. Диссертация 1 ММИ (1949)
И. Збарский, Бюлл. экспер. мед. **23**, 437 (1947)
В. Новосельская, Аминокислотный состав белков некоторых органов человека в норме и при раке. Диссертация (1940)
В. Новосельская, Сборн. раб. по физиологии 142 (1939)
М. Степанова, Аминокислотный состав белков органов и тканей при голодании и избыточном белковом питании. — Диссертация Инст. пит. Акад. мед. наук (1947)
А. Степаненко, Сборн. раб. по физиологии 155 (1939)
И. Збарский, Диссертация 1 ММИ (1949)

КОЖА

С. Мардашев, Биох. **12**, 444 (1947)
С. Мардашев, Л. Семина, Бюлл. экспер. биол. и мед. **25**, 441 (1948)

КЕРАТИНЫ

С. Демяновский, Уч. зап. фак. естествозн. Моск. пед. инст. 3, 89 (1938)
Е. Стахеева-Каверзнева, Н. Гаврилов, Биох. **2**, 19 (1937)
Е. Цинцевич, Аминокислотный состав фиброина шелка тутового и дубового шелкопряда. МГУ. Диссертация (1943)

ПРОТАМИНЫ

М. Лисицын, Н. Александровская, Z. physiol. Chem. **238**, 54 (1936)
М. Лисицын, Н. Александровская, Труды лабор. по изуч. белка АН СССР **1**, **27** (1940)

Определение аминокислотного состава в пищевых продуктах животного происхождения

Л. Горожанкина, Содержание метионина в белках некоторых пищевых продуктов. Диссертация Инст. пит. Акад. мед. наук (1946)
А. Шарпенак, Физиол. журн. **17**, 264 (1934)
А. Шарпенак, Физиол. журн. **21**, 752 (1936)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, Физиол. журн. **17**, 799 (1934)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, Вопр. питания **3** (2), 78 (1934)
А. Шарпенак, Г. Еремин, Вопр. питания **4** (4), 11 (1925)

МЯСО

О. Балашова, В. Львова, Е. Соловьева, А. Шарпенак, Физиол. журн. **17**, 277 (1934)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Либина, Х. Перцовская, Г. Еремин, Вопр. питания **6** (1), 31 (1937)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, В. Львова, Вопр. питания **1** (3), 83 (1934)

МОЛОКО

П. Кученев, Докл. М. С. Х. А. им. Тимирязева (3), 149 (1946); (7), 149 (1948)

РЫБА

О. Балашова, А. Таранова, Л. Горожанкин, Научн. труды Инст. питания 112 (1948)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, Вопр. питания **3** (4), 78 (1934)
А. Шарпенак, О. Балашова, Х. Перцовская, Вопр. питания **3** (6), 57 (1930)
А. Шарпенак, О. Балашова, И. Гурьева, Вопр. питания **6** (1), 34 (1937)

ЯЙЦО

А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, О. Корицкая, Физиол. журн **17**, 788 (1934)
Р. Этингоф, Аминокислотный состав суммарного белка куриного яйца на различных стадиях развития эмбриона. Диссертация 1 ММИ (1947)

РАЗНЫЕ

А. Ефимочкин, Ралль, ДАН **25**, 481 (1939)
И. Мензоров, Бюлл. экспер. мед. **6**, 301 (1938)

Определение аминокислотного состава в белках растительного происхождения

П. Агатов, Биох. **6**, 37 (1941)
П. Агатов, Труды Лабор. по изучению белка и белкового обмена им. Тимирязева **7**, 3 (1935)
П. Агатов, Э. Безингер, М. Каструбина, Биох. **1**, 201 (1936)
А. Белозерский, Биох. **1**, 255 (1936)
А. Белозерский, Нуклеопротеиды и полинуклеиновые кислоты растений. Диссертация НИИБ МГУ (1943)
А. Белозерский, П. Агатов, Н. Бывших, М. Павлова, Z. physiol. Chem. **226**, 73 (1934)
А. Белозерский, Т. Пасхина, Биох. **10**, 344 (1945)
А. Белозерский, С. Чичирев, Биох. **1**, 134 (1936)
Т. Евреинова, Микробиол. **17**, 24 (1948)
В. Коновалов, Биох. **2**, 47 (1937)
С. Кузьмин, Z. physiol. Chem. **238**, 145 (1936)
В. Новиков, К. Сухоруков, Труды Лабор. по изучению белка и белкового обмена им. Тимирязева **1**, 75 (1931)
К. Опаляр, Биох. **2**, 82 (1937)
В. Пашевич, Биох. 2, 666 (1937)

Определение аминокислотного состава в пищевых продуктах растительного происхождения

О. Балашова, А. Таранова, Научн. труды Инст. питания **105** (1948)
А. Стафийчук, Лесохим. пром. **7**, 11 (1940)
А. Шарпенак, О. Балашова, Научн. труды Инст. питания **91** (1948)
А. Шарпенак, О. Балашова, Научн. труды Инст. питания **95** (1948)
А. Шарпенак, О. Балашова, Научн. труды Инст. питания **98** (1948)
А. Шарпенак, О. Балашова, Научн. труды Инст. питания **102** (1948)
А. Шарпенак, О. Балашова, Е. Соловьева, Вопр. питания **3** (2), 85 (1934)

КОРМА

В. Костромина, Усп. зоотехн. наук **1** (2), 183 (1935)
Д. Позомантир, Вестн. с.-х. науки. Животноводство (4), 3 (1940)
Н. Прянишников, С. Машевицкая, Рустамбеков, Шеремет, Вестн. с.-х. науки, Животноводство (2), 75 (1940)
Д. Серебряков, Усп. зоотехн. наук **1** (2), 188 (1935)

ЛИТЕРАТУРА

1. *Abderhalden E.*, Z. physiol. Ch., **37**, 484—494 (1902—03).
2. *Abderhalden E.*, Z. physiol. Ch., **37**, 495—498 (1902—03).
3. *Abderhalden E.*, Z. physiol. Ch., **37**, 499—505 (1902—03).
4. *Abderhalden E.*, *Schittenhelm A.*, Z. physiol. Ch., **41**, 293—298 (1904).
5. *Abderhalden E.*, Z. physiol. Ch., **44**, 17—52 (1905).
6. *Abderhalden E.*, *Rostoski O.*, Z. physiol. Ch., **44**, 265—275 (1905).
7. *Abderhalden E.*, *Samuely F.*, Z. physiol. Ch., **44**, 276—283 (1905).
8. *Abderhalden E.*, *Reinhold B.*, Z. physiol. Ch., **44**, 284—293 (1905).
9. *Abderhalden E.*, *Wells H. G.*, Z. physiol. Ch., **46**, 31—39 (1905).
10. *Abderhalden E. Le Count E. R.*, Z. physiol. Ch., **46**, 40—46 (1905).
11. *Abderhalden E.*, *Rostoski O.*, Z. physiol. Ch., **46**, 125—135 (1905).
12. *Abderhalden E.*, *Strauss E.*, Z. physiol. Ch., **48**, 49—53 (1906).
13. *Abderhalden E.*, *Hunter A.*, Z. physiol. Ch., **48**, 505—512 (1906).
14. *Abderhalden E.*, *Ebstein E.*, Z. physiol. Ch., **48**, 530—534 (1906).
15. *Abderhalden E.*, *Kempe M.*, Z. physiol. Ch., **52**, 207—218 (1907).
16. *Abderhalden E.*, *Voitinovici A.*, Z. physiol. Ch., **52**, 348—367 (1907).
17. *Abderhalden E.*, *Langstein L.*, Z, physiol. Ch., **66**, 8—12 (1910).
18. *Abderhalden E.*, *Weil A.*, Z. physiol. Ch., **74**, 445—471 (1911).
19. *Abderhalden E.*, *Weil A.*, Z. physiol. Ch., **77**, 59—74 (1912).
20. *Abderhalden E.*, Z. physiol. Ch., **120**, 207—213 (1922).
21. *Abderhalden E.*, *Fleischmann R.*, *Irion W.*, Fermentforsch., **10**, 446—454 (1928—29).
22. *Abderhalden E.*, *Neumann A.*, Z. physiol. Ch., 238, 177—182 (1936).
23. *Abderhalden E.*, *Siebel H.*, Z. physiol. Ch., **238**, 169—176 (1936).
24. *Abderhalden E.*, *Baertich E.*, *Zeisecke W.*, Z. physiol. Ch., **240**, 152—162 (1936).
25. *Ågren G.*, Skand. Arch. f. Physiol., **69**, 1—78 (1934).
26. *Ågren G.*, J. Physiol., **94**, 553—559 (1939).
27. *Albanese A. A.*, J. biol. chem., **134**, 467—482 (1940).
28. *Albanese A. A.*, *Frankston J. E.*, J. biol. chem., **144**, 563—564 (1942).
29. *Almquist H. J.*, *Mecchi E.*, *Kratzer F. H.*, *Grau C. R.*, J. Nutr., **24**, 385—392 (1942).
30. *Alving A. S.*, *Mirsky A. E.*, J. Clin. Invest., **15**, 215—220 (1936).
31. *Andrews J. C.*, *Andrews K. C.*, J. biol. chem., **118**, 555—567 (1937).
32. *Argiris A. Z.*, physiol. Ch., **54**, 86—94 (1907—08).
33. *Arhimo A. A.*, Suomen Kemistilehti, **12B**, 6 (1939).
34. *Arhimo A. A.*, *Laine T.*, Suomen Kemistilehti, **12B**, 18 (1939).
35. *Arnold V.*, Z. physiol. Ch., **70**, 300—309 (1910—11).
36. *Arnow L. E.*, J. biol. chem., **118**, 531—537 (1937).
37. *Arnow L. E.*, *Burns J.*, *Bernhart F. W.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **41**, 499—500 (1939).
38. *Ayre C. A.*, Biochem. J., **32**, 1152—1156 (1938).
39. *Baernstein H. D.*, J. biol. chem., **89**, 125—131 (1930).
40. *Baernstein H. D.*, J. biol. chem., **97**, 663—668 (1932).
41. *Baernstein H. D.*, J. biol. chem., **97**, 669—674 (1932).
42. *Baernstein H. D.*, J. biol. chem., **115**, 25—32 (1936).

42A. *Baernstein H. D.*, J. biol. chem., **115**, 33—36 (1936).

43. *Bailey K.*, Biochem. J., **31**, 1396—1405 (1937).
44. *Bailey K.*, Biochem. J., **31**, 1406—1413 (1937).
45. *Bàlint P.*, Biochem. Z., **299**, 133—136 (1938).
46. *Bàlint P.*, *Bàlint M.*, Biochem. Z., **305**, 310—322 (1940).
47. *Bàlint P.*, *Bàlint M.*, Biochem. Z., **308**, 82—88 (1941), по Ch. A., **37**, 147 (1943).
48. *Balls A. K.*, J. Washington Acad. Sci., **32**, 132—137 (1942).
49. *Balker S. B.*, *Summerson W. H.*, J. biol. chem. **138**, 535—554 (1941).
50. *Barger G.*, *Coyne F. P.*, Biochem. J., 22, 1417—1425 (1928).
51. *Barnes H.*, *Peters R. A.*, Biochem. J., **26**, 2203—2219 (1932).
52. *Barritt J.*, Biochem. J., **28**, 1—5 (1934).
53. *Bastian M. A.*, Bull. Soc. chim. biol., **19**, 1299—1301 (1937).
54. *Bates R. W.*, Pr. Am. Soc. biol. chem., J. biol. chem., **119**, VII (1937).
55. *Beach E. F.*, *Erickson B. N.*, *Bernstein S. S.*, *Williams H. H.*, *Macy I. G.*, J. biol. chem., **128**, 339—346 (1939).
56. *Beach E. F.*, *Bernstein S. S.*, *Hummel F. C.*, *Williams H. H.*, *Macy I. G.*, J. biol. chem., **130**, 115—119 (1939).
57. *Beach E. F.*, *Bernstein S. S.*, *Hoffman O. D.*, *Teague D. M.*, *Macy I. G.*, J. biol. chem., **139**, 57—63 (1941).
58. *Beach E. F.*, *Teague D. M.*, J. biol. chem., **172**, 277—284 (1942).
59. *Beach E. F.*, *Munks B.*, *Robinson A.*, J. biol. chem., **148**, 431—439 (1943).
60. *Beadle G. W.*, *Tatum E. L.*, Pr. Nat. Acad. Sci., **27**, 499—506 (1941).
61. *Benedict S. R.*, J. biol. chem., **6**, 51—52 (1909).
62. *Benedict S. R.*, J. biol. chem., **82**, 1—3 (1929).
63. *Bennett M. A.*, Biochem. J., **33**, 885—892 (1939).
64. *Bergmann M.*, *Fox S. W.*, J. biol. chem., **109**, 317—324 (1935).
65. *Bergmann M.*, J. biol. chem., **110**, 471—479 (1935).
66. *Bergmann M.*, *Niemann C.*, J. biol. chem., **115**, 77—85 (1936).
67. *Bergmann M.*, *Niemann C.*, J. biol. chem., **118**, 301—314 (1937).
68. *Bergmann M.*, J. biol. chem., **122**, 569—576 (1937—38).
69. *Bergmann M.*, *Niemann C.*, J. biol. chem., **122**, 577—596 (1937—38).
70. *Bergmann M.*, *Stein W. H.*, J. biol. chem., **128**, 217—232 (1939).
71. *Bergmann M.*, *Stein W. H.*, J. biol. chem., **129**, 609—618 (1939).
72. *Bernhart F. W.*, Pr. Am. Soc. biol. Chem. J. biol. chem., **123**, X (1938).
73. *Bernhart F. W.*, J. biol. chem., **132**, 189—193 (1940).
74. *Biale J. B.*, *Weiss F. T.*, J. Am. Soc., **61**, 635—636 (1939).
75. *Birkofer L.*, *Taurins A.*, Z. physiol. Ch., **265**, 94—101 (1940).
76. *Blau N. F.*, J. biol. chem., **110**, 351—363 (1935).
77. *Block R. J.*, *Vickery H. B.*, J. biol. chem., **93**, 113—117 (1931).
78. *Block R. J.*, J. biol. chem., **94**, 647—651 (1931—32).
79. *Block R. J.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **32**, 1574—1575 (1934—35).
80. *Block R. J.*, J. biol. chem., **104**, 339—341 (1934).
81. *Block R. J.*, J. biol. chem., **104**, 343—346 (1934).
82. *Block R. J.*, *Darrow D. C.*, *Cary M. K.*, J. biol. chem., **104**, 347—350 (1934).
83. *Block R. J.*, J. biol. chem., **105**, 455—461 (1934).
84. *Block R. J.*, J. biol. **105**, 663—666 (1934).
85. *Block R. J.*, *Jones D. B.*, *Gersdorff C. E. F.*, J. biol. chem., **105**, 667—668 (1934).
86. *Block R. J.*, J. biol. chem., **106**, 457—462 (1934).
87. *Block R. J.*, Yale J. Biol. and Med., **7**, 235—252 (1935).
88. *Block R. J.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **37**, 580—582 (1937—38).
89. *Block R. J.*, J. biol. chem., **119**, 765—768 (1937).
90. *Block R. J.*, J. biol. chem., **120**, 467—470 (1937).
91. *Block R. J.*, *Horwitt M. K.*, J. biol. chem., **121**, 99—100 (1937).
92. *Block R. J.*, J. biol. chem., **121**, 411—416 (1937).
93. *Block R. J.*, J. biol. chem., **121**, 761—770 (1937).

94. *Block R. J.*, Comparative Biochemistry of the Proteins. Cold Spring Harbo Symposia, **6**, 79—90 (1938).
95. *Block R. J.*, The Determination of the Amino Acids. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn., 1938, 85 p.
96. *Block R. J., Bolling D.*, J. biol. chem., **127**, 685—693 (1939).
97. *Block R. J.*, J. biol. chem., **128**, 181—186 (1939).
98. *Block R. J., Bolling D.*, J. biol. chem., **129**, 1—12 (1939).
99. *Block R. J., Bolling D.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **40**, 710 (1939).
100. *Block R. J., Bolling D.*, J. biol. chem., **130**, 365—374 (1939).
101. *Block R. J.*, J. biol. chem., **133**, 67—69 (1940).
102. *Block R. J.*, J. biol. chem., **133**, 71—74 (1940).
103. *Block R. J., Bolling D., Webb M.*, Pr. Am. Soc. Biol. Chem. J. biol. chem. **133**, XIV (1940).
104. *Block R. J., Bolling D.*, The Determination of the Amino Acids. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn., 1940, 58 p.
105. *Block R. J., Jervis G. A., Bolling D., Webb M.*, J. biol. chem., **134**, 567—572 (1940).
106. *Block R. J., Bolling D., Kondritzer A. A.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **45**, 289—292 (1940).
107. *Block R. J.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **51**, 252—253 (1942).
108. *Block R. J.*, Yale J. Biol. and Med., **15**, 722—728 (1943).
109. *Block W. D., Lewis H. B.*, J. biol. chem., **125**, 561—570 (1938).
110. *Block W. D., Murrill W. A.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **47**, 374—376 (1941).
111. *Blumenthal D., Clarke H. T.*, J. biol. chem., **110**, 343—349 (1935).
112. *Bolling D., Block R. J.*, Arch. of Biochem., **2**, 93—95 (1943).
113. *Bolling D.*, Неопубликовано.
114. *Bonot A., Cahn T.*, Bull. Soc. chim. biol., **9**, 1001—1006 (1927).
115. *Borchers R., Totter J. R., Berg. C. P.*, J. biol. chem., **142**, 697—704 (1942).
116. *Bovarnick M.*, J. biol. chem., **145**, 415—424 (1942).
117. *Boyd W. J.*, Biochem. J., **23**, 78—82 (1929).
118. *Boyd W. J.*, Biochem. J., **27**, 1838—1848 (1933).
119. *Boyd M. J., Logan M. A.*, J. biol. chem., **146**, 279—287 (1942).
120. *Boyd M. J.*, Colometric Determination, of Serine. Частное сообщение.
121. *Brand E., Block R. J., Kassell B., Cahill G. F.*, J. biol. chem., **119**, 669—680 (1937).
122. *Brand E., Kassell B., Heidelberger M.*, Pr. Am. Soc. Biol. Chem.; J. biol. chem., **128**, XI (1939).
123. *Brand E., Kassell B.*, J. biol. chem. **131**, 489—502 (1939).
124. *Brand E., Kassell B.*, J. biol. chem., **133**, 437—444 (1940).
125. *Brand E., Kassell B.*, J. Gen. Physiol., **25**, 167—176 (1941—42).
126. *Brand E., Kassell B.*, J. biol. chem., **141**, 999—1000 (1941).
127. *Brand E., Kassell B.*, J. biol. chem., **145**, 359—364 (1942).
128. *Brand E., Kassell B.*, J. biol. chem., **145**, 365—378 (1942).
129. *Brazier M. A. B.*, Biochem. J., **24**, 1188—1198 (1930).
130. *Brdicka R.*, Collect. Czechoslov. Chem. Communication, **5**, 112—128 (1933).
131. *Brdicka R.*, Mikrochemie, **15**, 167—180 (1934).
132. *Brice A. T.*, J. Lab. Clin. Med., **19**, 1113—1115 (1933—34).
133. *Brown W. L.*, J. biol. chem., **142**, 299—301 (1942).
134. *Brown W. L.*, Частное сообщение, апрель 1942.
135. *Brummer P.*, Ch. A., **36**, 6566 (1942).
136. *Bushill J. H., Lampitt L. H., Baker L. C.*, Biochem. J., **28**, 1293—1304 (1934).
137. *Bussit J.*, Recherches analytiques sur l'arginine et l'histidine. Herrmann et Cie. Paris, 1934, 113 p.

137A. *Callan T. P., Toennies G.*, Ind. and Eng. Ch., An. Ed., **13**, 450—455 (1941).
138. *Calvery H. O.*, J. biol. chem., **83**, 631—648 (1929).
139. *Calvery H. O.*, J. biol. chem., **94**, 613—634 (1931—32).
140. *Calvery H. O., White A.*, J. biol. chem., **94**, 635—639 (1931—32).
141. *Calvery H. O.*, J. biol. chem., **95**, 297—300 (1932).
142. *Calvery H. O.*, J. biol. chem., **100**, 183—186 (1933).
143. *Calvery H. O., Freyberg R. H.*, J. biol. chem., **109**, 739—743 (1935).
144. *Calvery H. O.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **32**, 1099—1100 (1934—1935).
145. *Calvery H. O.*, J. biol. chem., **112**, 167—169 (1935—36).
146. *Calvery H. O., Herriott R. M., Northrup J. H.*, J. biol. chem., **113**, 11—14 (1935).
147. *Cannan R. K., Palmer A. H., Kibrick A. C.*, J. biol. chem., **142**, 803—822 (1942).
148. *Cannan R. K.*, Частное сообщение, декабрь 1942.
149. *Cary C. A.*, J. biol. chem., **67**, XXXIX (1926).
150. *Catch J. R., Cook A. H., Heilbron I. M.*, Nature, **150**, 633—634 (1942).
151. *Cavett J. W.*, J. biol. chem., **95**, 335—343 (1932).
152. *Cavett J. W.*, J. biol. chem., **114**, 65—73 (1936).
153. *Cavett J. W.*, Частное сообщение, март 1942.
154. *Chaudhuri T. C.*, J. Am. Soc., **64**, 315 (1942).
155. *Cheldelin V. H., Williams R. J.*, J. Am. Soc., **64**, 1513—1516 (1943).
156. *Cherbuliez E., Plattner P., Ariel S.*, Helv. chim. Acta, **13**, 1390—1402 (1930).
157. *Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F., Boyland E.*, Biochem. J, **34**, 285—300 (1940).
157A. *Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F.*, Biochem. J., **37**, 354—359 (1943).
158. *Chibnall A. C., Bailey K., Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F.*, Biochem. J., **37**, 360—372 (1943).
159. *Chibnall A. C., Rees M. W., Williams E. F.*, Biochem. J., **37**, 372—388 (1943).
160. *Chibnall A. C.*, Amino Acid Analysis and the Structure of Protein. The Bakterian Lecture, 1942.
161. *Christensen B. E., West E. S., Dimick K. P.*, J. biol. chem., **137**, 735—738 (1941).
162. *Christensen H. N., Edwards R. R., Piersma H. D.*, J. biol. chem., **141**, 187—195 (1941).
163. *Clancy V. J.*, Biochem. J., **20**, 1186—1189 (1926—27).
164. *Clarke H. T., Inouye J. M.*, J. biol. chem., **89**, 399—419 (1930).
165. *Clarke H. T.*, J. biol. chem., **97**, 235—248 (1932).
166. *Clay R. C., Cook K., Routh J. I.*, J. Am. Soc., **62**, 2709—2710 (1940).
167. *Cohen P. P.*, Biochem. J., **33**, 551—558 (1939).
168. *Conrad R. M., Berg C. P.*, J. biol. chem., **117**, 351—363 (1937).
169. *Conway E. J., Byrne A.*, Biochem. J., **27**, 419—429 (1933).
170. *Conway E. J., O'Malley E.*, Biochem. J., **36**, 655—661 (1942).
171. *Cook C. A., Smith A. H.*, J. biol. chem., **85**, 251—260 (1929—30).
172. *Cox C. J., King H., Berg C. P.*, J. biol. chem., **81**, 755—764 (1929).
173. *Criegee R., Kraft L., Rank B.*, Lieb. Ann., **507**, 159—197 (1933).
174. *Croft H.*, J. of Science, **21**, 197—200 (1842).
175. *Csonka F. A., Jones D. B.*, J. biol. chem., **73**, 321—329 (1927).
176. *Csonka F. A., Jones D. B.*, J. biol. chem., **82**, 17—21 (1929).
177. *Csonka F. A.*, J. biol. chem., **97**, 281—286 (1932).
178. *Csonka F. A.*, J. biol. chem., **109**, 703—715 (1935).
179. *Csonka F. A.*, J. biol. chem., **118**, 147—153 (1937).
180. *Csonka F. A.*, Cereal Chem., **14**, 397—399 (1937b).
181. *Csonka F. A.*, J. Agri. Research, **59**, 765—768 (1939).
182. *Csonka F. A.*, Cereal Chem., **18**, 523—529 (1941).

183. *Dakin H. D.*, Biochem. J., **12**, 290—317 (1918).
184. *Dakin H. D.*, Biochem. J., **13**, 398—429 (1919).
185. *Dakin H. D.*, J. biol. chem., **44**, 499—552 (1920).
186. *Dakin H. D.*, Z. physiol. Ch., **130**, 159—168 (1923).
187. *Dakin H. D.*, J. biol. chem., **61**, 137—138 (1924).
188. *Dakin H. D.*, *West R.*, J. biol. chem., **109**, 489—522 (1935).
189. *Dakin H. D.*, Organic Syntheses, **15**, 74—76 (1935).
190. *Dakin H. D.*, J. biol. chem., **141**, 945—950 (1941).
191. *Dakin H. D.*, J. biol. chem., **146**, 237—240 (1942).
192. *Deseö D.*, Biochem. Z., **271**, 142—151 (1934).
193. *Deseö D.*, *Lamoth E.*, *Fodor L.*, Biochem. Z., **271**, 381—384 (1934).
194. *Desneulle P.*, Enzymol., 5, 37—43 (1938).
195. *Devine J.*, Biochem. J., **35**, 433—445 (1941).
196. *Dische Z.*, Mikrochemie, **8**, 4—32 (1930).
197. *Doherty D. G.*, *Stein W. H.*, *Bergmann M.*, J. biol. chem., **135**, 487—496 (1940).
198. *Dubnoff J. W.*, *Borsook H.*, J. biol. chem., **138**, 381—388 (1941).
199. *Dubnoff J. W.*, J. biol. chem., **141**, 711—716 (1941).
200. *Dumazert Z.*, *Poggi R.*, Bull. Soc. chim. biol., **21**, 1381—1388 (1939).
202. *Eckstein H. C.*, J. biol. chem., **67**, 601—607 (1926).
203. *Eckstein H. C.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **32** 1573—1574 (1934—35).
204. *Edlbacher S.*, *Baur H.*, *Staehelin H. R.*, *Zeller A.*, Z. physiol. Ch., **270**, 158—164 (1941), по Ch. A., 37, 401—402 (1943).
205. *Eegriwe E.*, Z. anal. Ch., **89**, 121—125 (1932).
206. *Eegriwe E.*, Z. anal. Ch., **95**, 323—327 (1933).
207. *Ehrlich F.*, *Wendel A.*, Biochem. Z., **8**, 399—437 (1908).
208. *Elson L. A.*, *Morgan W. T. J.*, Biochem. J., **27**, 1824—1828 (1933).
209. *Elsworth F. F.*, *Phillips H.*, Biochem. J., **35**, 135—143 (1941).
210. *Engeland R.*, Ber., **42**, 2962—2969 (1909).
211. *Engeland R.*, Z. physiol. Ch., **120**, 130—140 (1922).
212. *Engeland R.*, *Bastian A.*, Bull. Soc. chim. biol., **19**, 1126—1128 (1937).
213. *Erickson B. N.*, *Hoffman O.*, *Beach E. F.*, *Williams H. H.*, *Macy I. G.*, J. Lab. Clin. Med., **26**, 1492—1499 (1941).
214. *Evans J. S.*, *Hausschildt J. D.*, J. biol. chem., **145**, 335—339 (1942) и частное сообщение.
215. *Fabinyi R.*, Zbl., (2), 301—302 (1900).
216. *Fabinyi R.*, Zbl., (2), 302—303 (1900).
217. *Fearon W. R.*, Biochem. J., **33**, 902—907 (1939).
218. *Fieser L. F.*, Experiments in Organic Chemistry, D. C. Heath и Co., N. Y., 369 p. (1935).
219. *Fischer E.*, Ber., **34**, 433—454 (1901).
220. *Fischer E.*, Z. physiol. Ch., **33**, 151—176 (1901).
221. *Fischer E.*, *Bergell P.*, Ber., **35**, 3779—3787 (1902).
222. *Fischer E.*, *Levene P. A.*, *Aders R. H.*, Z. physiol. Ch., **35**, 70—79 (1902).
223. *Fischer E.*, Z. physiol. Ch., **35**, 227—230 (1902).
224. *Fischer E.*, *Dörpinghaus T.*, Z. physiol. Ch., **36**, 462—477 (1902).
225. *Fleming R.*, Biochem. J., **24**, 965—966 (1930).
226. *Fleitmann T.*, Lieb. Ann., **61**, 121—126 (1847).
227. *Földes F.*, Biochem. Z., **283**, 199—209 (1935—36).
228. *Folin O.*, *Macallum A. B.*, Jr., J. biol. chem., **13**, 363—369 (1912—13).
229. *Folin O.*, *Wright L. E.*, J. biol. chem., **38**, 461—464 (1919).
230. *Folin O.*, J. biol. chem., **51**, 377—391 (1922).
231. *Folin O.*, *Looney J. M.*, J. biol. chem., **51**, 421—434 (1922).
232. *Folin O.*, *Ciocalteu V.*, J. biol. chem., **73**, 627—650 (1927).
233. *Folin O.*, *Marenzi A. D.*, J. biol. chem., **83**, 89—102 (1929).
234. *Folin O.*, *Marenzi A. D.*, J. biol. chem., **83**, 103—108 (1929).
235. *Folin O.*, *Marenzi A. D.*, J. biol. chem., **83**, 109—113 (1929).

236. *Folin O.*, J. biol. chem., **106**, 311—314 (1934).
237. *Folley S. J.*, Biochem. J., **24**, 961—964 (1930).
238. *Fontaine T. D., Olcott H. S., Lowy A.*, Ind. Eng. Ch., **34**, 116—118 (1942).
239. *Foreman F. W.*, Biochem. J., **8**, 463—480 (1914).
240. *Foreman F. W.*, Biochem. J., **13**, 378—397 (1919).
241. *Fosse R. L.*, Urea, Les Presses Univ. de France, Paris, 303 p. (1928).
242. *Foster G. L., Shemin D.*, Organic Syntheses, **18**, 43—46 (1938).
243. *Freyberg R. H., Block W. D., Fromer M. F.*, J. Clin. Invest., **19**, 423—435 (1940).
244. *Friedemann T. E., Kendall A. I.*, J. biol. chem., **82**, 23—43 (1929).
245. *Fromageot C., Heitz P.*, Microchemica acta, **3**, 52—67 (1938).
246. *Fromageot C., Heitz P.*, Enzymol., **6**, 258—270 (1939).
247. *Fromageot C., Mourgue M.*, Enzymol., **9**, 329—336 (1941).
248. *Fürth O.*, Bioch. Z., **146**, 259—274 (1924).
249. *Fürth O., Dische Z.*, Biochem. Z., **146**, 275—296 (1924).
250. *Fürth O., Fischer A.*, Biochem. Z., **154**, 1—23 (1924).
251. *Fürth O., Deutschberger O.*, Biochem. Z., **186**, 139—154 (1927).
252. *Fürth O., Minnibeck H.*, Biochem. Z., **250**, 18—34 (1932).
253. *Fürth O., Scholl R., Hermann H.*, Biochem. Z., **251**, 404—417 (1932).
254. *Fujiwara H., Kataoka E.*, Z. physiol. Ch., **216**, 133—137 (1933).
255. *Gaunt W. E.*, Nature, **149**, 666—667 (1942).
256. *Gerngross O., Voss K., Herfelt T.*, Ber., **66**, 435—442 (1933).
257. *Gilson L. E., Tytell A. A., Logan M. A., Perkins P.*, Federation proceedings, **1**, 112 (1942).
258. *Giral J., Craviota R. O.*, Ciencia, **2**, 204—206 (1941). Ch. A., **36**, 5483 (1942).
259. *Goepfert G. J.*, Biochem. J., **34**, 1012—1014 (1940).
260. *Gordon J. J., Quastel J. H.*, Biochem. J., **33**, 1332—1337 (1939).
261. *Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **35**, 1369—1387 (1941).
261A. *Gordon S. A., Wildmann S. G.*, J. biol. chem., **147**, 389—398 (1943).
261B. *Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **37**, 79—86 (1943).
261C. *Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **37**, 86—92 (1943).
261D. *Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **37**, 92—102 (1943).
261E. *Gordon A. H., Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **37**, 313—318 (1943).
262. *Gornall A. G., Hunter A.*, Biochem. J., **35**, 650—658 (1941).
263. *Graff S., Maculla E., Graff A. M.*, J. biol. chem., **121**, 71—77 (1937).
264. *Graff S., Maculla E., Graff A. M.*, J. biol. chem., **121**, 81—86 (1937).
265. *Graff S., Rittenberg D., Foster G. L.*, J. biol. chem., **133**, 745—752 (1940).
266. *Greenstein J. P., Jenrette W. V.*, J. Nat. Cancer Institute, **1**, 91—104 (1940).
267. *Greenstein J. P., Jenrette W. V., White J.*, J. Nat. Cancer Institute, **2**. 305—306 (1941).
268. *Guest G. H., McFarlane W. D.*, Canad. J. Research, **17B**, 133—138 (1939).
269. *Guest G. H.*, Canad. J. Research, **17B**, 143—144 (1939).
270. *Гулевич В.*, Z. physiol. Ch., **27**, 178—215 (1899).
271. *Gulland J. M., Morris C. J. O. R.*, J. Chem. Soc. (London), 1644—1649 (1934).
272. *Гуревич Д.*, Физиол. журн. **27**, 615—617 (1939).
273. *Gurin S.*, J. Am. Soc., **58**, 2104—2106 (1936).
274. *Gurin S., Hood D. B.*, J. biol. chem., **131**, 211—223 (1939).
275. *Guthrie J. D., Allerton J.*, Contrib. Boyce Thompson Inst., **12**, 103—109 (1941).
276. *Hallett L. T.*, Ind. and Eng. Ch., Anal. Ed., **14**, 956—993 (1942).

277. *Hamilton T. S., Nakamura F. I.*, J. Agr. Research, **61**, 207—214 (1940).
278. *Hanke M. T., Koessler K. K.*, J. biol. chem., **43**, 527—542 (1920).
279. *Hanke M. T.*, J. biol. chem., **66**, 475—488 (1925).
280. *Hanke M. T.*, J. biol. chem., **66**, 489—493 (1925).
281. *Hanke M. T.*, J. biol. chem., **79**, 587—609 (1928).
282. *Harden A., Norris D.*, Physiol. J., **42**, 332—336 (1911).
283. *Hart E.*, Z. physiol. Ch., **33**, 347—362 (1901).
284. *Hausmann W.*, Z. physiol. Ch., **27**, 95—108 (1899).
285. *Heffter A.*, Zbl., **3**, 822—824 (1907).
286. *Heinrich E.*, Ch. A., **36**, 4926 (1942).
287. *Hektoen L., Welker W. H.*, Biochem. J., **34**, 487—489 (1940).
288. *Hellerman L., Chinard F. P., Ramsdell P. A.*, J. Am. Soc., **63**, 2551—2553 (1941).
289. *Herriott R. M.*, Pr. Soc. Expr. Biol. and Med., **46**, 642—644 (1941).
290. *Hess W. C.*, J. biol. chem., **100**, LIV (1933).
291. *Hess W. C.*, J. biol. chem., **103**, 449—453 (1933).
292. *Hess W. C.*, J. biol. chem., **109**, XLIII (1935).
293. *Hess W. C., Sullivan M. X.*, J. biol. chem., **128**, 93—99 (1939).
294. *Hess W. C., Sullivan M. X., Palmes E. D.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **48**, 353—355 (1941).
295. *Hess W. C., Sullivan M. X.*, J. biol. chem., **146**, 381—384 (1942).
296. *Hewitt L. F.*, Biochem. J., **30**, 2229—2236 (1936).
297. *Hewitt L. F.*, Biochem. J., **31**, 360—366 (1937).
298. *Hijikata Y.*, J. biol. chem., **51**, 155—164 (1922).
299. *Hirohata R.*, J. Biochem. (Japan), **25**, 519—524 (1937).
300. *Hlaziwetz H., Habermann J.*, Lieb. Ann., **169**, 150—166 (1873).
301. *Hoffmann R.*, Lieb. Ann., **87**, 123—125 (1853).
302. *Holiday E. R.*, Biochem. J., **30**, 1795—1803 (1936).
303. *Holm G. E., Greenbank G. R.*, J. Am. Soc., **45**, 1788—1792 (1923).
304. *Homer A.*, J. biol. chem., **22**, 345—368 (1915).
305. *Homer A.*, J. biol. chem., **22**, 369—389 (1915).
306. *Hopkins F. G., Cole S. W.*, Pr. Roy. Soc., **68**, 21—33 (1901).
307. *Hopkins F. G., Cole S. W.*, J. Physiol., **27**, 418—428 (1901—02).
308. *Hopkins F. G., Savory H.*, J. Physiol., **42**, 189—250 (1911).
309. *Hopkins F. G.*, J. biol. chem., **84**, 269—320 (1929).
310. *Hotchkiss R. D.*, J. biol. chem., **141**, 171—185 (1941).
311. *Hunter G.*, Biochem. J., **16**, 637—639 (1922).
312. *Hunter A., Borsook H.*, J. biol. chem., **57**, 507—514 (1923).
313. *Hunter A., Dauphinee J. A.*, J. biol. chem., **85**, 627—665 (1929).
314. *Hunter A., Pettigrew J. B.*, Enzymol., **1**, 341—352 (1937).
315. *Ing H. R., Bergmann M.*, J. biol. chem., **129**, 603—607 (1939).
316. *Jansen B. C. P.*, Arch. néerl. Physiol., **1**, 618—624 (1916).
317. *Jean G.*, Bull. Soc. chim. biol., **16**, 307—309 (1934).
318. *Jensen H., Wintersteiner O., du Vigneaud V.*, J. Pharmacol. and Exp. Therap., **32**, 397—411 (1928).
319. *Jensen H., Wintersteiner O.*, J. biol. chem., **97**, 93—98 (1932).
320. *Jensen H., Wintersteiner O.*, J. biol. chem., **98**, 281—287 (1932).
321. *Jervis G. A., Block R. J., Bolling D., Kanze E.*, J. biol. chem., **134**, 105—113 (1940).
322. *Johns C. O., Jones D. B.*, J. biol. chem., **36**, 491—500 (1918).
333. *Johns C. O., Finks A. J., Gersdorff C. E. F.*, J. biol. chem., **37**, 149—153 (1919).
334. *Johns C. O., Jones D. B.*, J. biol. chem., **44**, 283—290 (1920).
335. *Johns C. O., Waterman H. C.*, J. biol. chem., **44**, 303—317 (1920).
336. *Johnson J. M.*, J. biol. chem., **132**, 781—782 (1940).
337. *Jolles A.*, Z. physiol. Ch., **87**, 310—312 (1913).
338. *Jones D. B., Johns C. O.*, J. biol. chem., **36**, 323—334 (1918).

339. *Jones D. B., Johns C. O.*, J. biol. chem., 44. 291—301 (1920).
340. *Jones D. B., Johns C. O.*, J. biol. chem., 48, 347—360 (1921).
341. *Jones D. B., Finks A. J., Gersdorff C. E. F.*, J. biol. chem., **51**, 103—114 (1922).
342. *Jones D. B., Gersdorff C. E. F., Moeller O.*, J. biol. chem., **62**, 183—195 (1924—25).
343. *Jones D. B., Moeller O.*, J. biol. chem., **79**, 429—441 (1928).
344. *Jorpes E.*, Biochem. J., **26**, 1488—1503 (1932).
345. *Jorpes E., Thorén S.*, Biochem. J., **26**, 1504—1506 (1932).
346. *Jorpes E.*, Biochem. J., **26**, 1507—1511 (1932).
347. *Jukes T. H., Kay H. D.*, J. biol. chem., **98**, 783—788 (1932).
348. *Jukes T. H.*, J. biol. chem., **103**, 425—437 (1933).
349. *Kandatu M.*, J. Agr. Chem. Soc. (Japan), **17**, 731—744 (1941), по Ch. A., **36**, 5521 (1942).
350. *Kapeller-Adler R.*, Biochem. Z., **252**, 185—200 (1932).
351. *Kapeller-Adler R.*, Biochem. Z., **264**, 131—141 (1933).
352. *Kapeller-Adler R.*. Biochem. Z., **271**, 206—208 (1934).
353. *Kapfhammer J., Eck R.*, Z. physiol. Ch., **170**, 294—312 (1927).
354. *Капланский С. Я.*, Труды Тимирязевского биологич. института. 243—255 (1935).
355. *Karrer P., Smirnoff A. P., Ehrensperger H., van Slooten J., Keller M.*, Z. physiol. Ch., **135**, 128—166 (1924).
356. *Kassell B., Brand E.*, J. biol. chem., **125**, 115—129 (1938).
357. *Kassell B., Brand E.*, J. biol. chem., **125**, 145—159 (1938).
358. *Kendall A. I., Friedmann T. E.*, J. Infect. Diseases, **47**, 171—175 (1930).
359. *Kendrick A. B., Hanke M. E.*, J. biol. chem., **117**, 161—174 (1937).
360. *Kiech V. C., Luck J. M., Smith A. E.*, J. biol. chem., **90**, 677—696 (1931).
361. Z. physiol. Ch., **161**, 147—148 (1926).
362. *Знаменская М.*, Z. physiol. Ch., **213**, 89—109 (1932).
363. *Кузьмин С.*, Z. physiol. Ch., **238**, 145—148 (1936).
364. *Kik M. C.*, Arkansas Agri. Exp. Station, Bull. **416**, 1—28 (1942).
365. *Kingston H. I., Schryver S. B.*, Biochem. J., **18**, 1070—1078 (1924).
366. *Klabunde H. K.*, J. biol. chem., **90**, 293—295 (1931).
367. *Klein D.*, J. biol. chem., **10**, 287—289 (1911—12).
368. *Klein G., Linser H.*, Z. physiol. Ch., **205**, 251—258 (1932).
369. *Kleinschmitt A.*, Z. physiol. Ch., **54**, 110—118 (1907—08).
370. *Knight C. A., Stanley W. M.*, J. biol. chem., **141**, 39—49 (1941).
371. *Knight C. A.*, J. Am. Soc., **64**, 2734—2736 (1942).
372. *Knoop F.*, Beitr. chem. physiol. Pathol., **11**, 356 (1908).
373. *Koch F.*, J. biol. chem., **9**, 121—122 (1911).
374. *Koehler A. E.*, J. biol. chem., **42**, 267—268 (1920).
375. *Koessler K. K., Hanke M. T.*, J. biol. chem., **39**, 497—519 (1919).
376. *Kollmann G.*, Biochem. Z., **194**, 1—14 (1928).
377. *Komm E.*, Z. physiol. Ch., **156**, 202—217 (1926).
378. *Kossel A.*, Z. physiol. Ch., **25**, 165—189 (1898).
379. *Kossel A., Kutscher F.*, Z. physiol. Ch., **31**, 165—214 (1900—01).
380. *Kossel A., Patten A. J.*, Z. physiol. Ch., **38**, 39—45 (1903).
381. *Kossel A., Pringle H.*, Z. physiol. Ch., **49**, 301—321 (1906).
383. *Kossel A., Weiss F.*, Z. physiol. Ch., **68**, 165—169 (1910).
384. *Kossel A., Gross R. E.*, Z. physiol. Ch., **135**, 167—174 (1924).
385. *Kossel A., Staudt W.*, Z. physiol. Ch., **156**, 270—274 (1926).
386. *Kossel A., Staudt W.*, Z. physiol. Ch., **170**, 91—105 (1927).
387. *Kovács E.*, Biochem. Z., **306**, 74—76 (1940).
388. *Kraus I.*, J. biol. chem., **63**, 157—178 (1925).
389. *Kraus — Ragins I.*, J. biol. chem., **80**, 543—556 (1928).
390. *Krebs H. A.*, Biochem. J., **31**, 2095—2124 (1937).
391. *Krijgsman B. J., Bouman E. F.*, Arch. Néerl. Physiol., **18** 458—471, (1933).

392. *Krisknaswamy, T. K.*, Proc. Indian Acad. Sci., **15A**, 135—138 (1942), по Ch. A., **36**, 4058 (1942).
393. *Kuhn R., Desnuelle P.*, Ber., **70**, 1907—1926 (1937).
394. *Kuhn R., Desnuelle P.*, Z. physiol. Ch., **251**, 19—22 (1938).
395. *Kuhn R., Birkofer L., Quackenbush F, W.*, Ber, **72**, 407—416 (1939).
396. *Kuhn R., Srensen N. A., Birkofer L.*, Ber., **73B**, 823—837 (1940), по Ch. A., 35, 3263 (1941).
397. *Laine T.*, Suomen Kemistilehti, **11B**, 28 (1938).
398. *Laine T.*, Suomen Kemistilehti, **12B**, 23 (1939).
399. *Lang K.*, Z. physiol. Ch., **208**, 273—280 (1932).
400. *Lang K.*, Z. physiol. Ch., **219**, 148—154 (1933).
401. *Lang K.*, Z. physiol. Ch., **222**, 3—5 (1933).
402. *Langley W. D.*, J. biol. chem., **137**, 255—265 (1941).
403. *Lapraik W.*, J. pr. Ch., **47**, 305—342 (1893).
404. *Larmour R. K.*, J. Agr. Research, **35**, 1091—1120 (1927).
405. *Lautenschläger C. L.*, Z. physiol. Ch., **102**, 226—243 (1918).
406. *Lavine T. F.*, J. biol. chem., **109**, 141—145 (1935).
407. *Lavine T. F.*, Federation Pr., **1**, 120—121 (1942).
408. *Lavine T. F.*, Частное сообщение, июнь 1942.
409. *Лавров Д.*, Z. physiol. Ch., **28**, 388—398 (1899).
410. *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **61**, 315—316 (1924).
411. *Lee W. C., Lewis H. B.*, J. biol. chem. **107**, 649—659 (1934).
412. *Lefevre C., Desgrez P.*, J. pharm. chim., **1**, 341—349 (1941), по Ch. A., 35, 7997 (1941).
413. *Leipert T., Alcock R.*, Biochem. Z., **270**, 99—103 (1934).
414. *Levene P. A.*, J. biol. chem., **1**, 413—414 (1905—06).
415. *Levene P. A., Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **6**, 391—418 (1909).
416. *Levene P. A., Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **6**, 419—430 (1909).
417. *Levene P. A., Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **16**, 103—120 (1913—14).
418. *Lewis H. B., Frayser L.*, J. biol. chem., **110**, 23—27 (1935).
419. *Li C. H., Lyons W. R., Evans H. M.*, J. biol. chem., **140**, 43—53 (1941).
420. *Lieben F., Loo Y. C.*, J. biol. chem., **145**, 223—228 (1942).
421. *Лисицын М., Александровская Н.*, Z. physiol. Ch., **238**, 54—58 (1936).
422. *Lock K., Thomas K.*, Z. physiol. Ch., **87**, 74—81 (1913).
423. *Lucas C. C., King E. J.*, Biochem. J., **26**, 2076—2089 (1932).
424. *Lucas C. C., Beveridge J. M. R.*, Biochem. J., **34**, 1356—1366 (1940).
425. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **26**, 2144—2159 (1932).
426. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **26**, 2160—2165 (1932).
427. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **27**, 668—673 (1933).
428. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **27**, 1022—1029 (1933).
429. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **31**, 1423—1433 (1937).
430. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **32**, 775—783 (1938).
431. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **32**, 2114—2122 (1938).
432. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **32**, 2123—2128 (1938).
433. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **33**, 110—122 (1939).
433A. *Lugg J. W. H.*, Biochem. J., **37**, 132—137 (1943).
433B. *Lyman C. M., Kuiken K. A., Norman, W. H., Hale F.*, Science, 48, 266 (1943) и частное сообщение, октябрь 1943.
434. *Macpherson H. T.*, Biochem. J., **36**, 59—63 (1942).
435. *Malaprade M. L.*, C. R., **186**, 382—384 (1928).
436. *Marenzi A. D.*, C. R., Soc. Biol., **104**, 405—407 (1930).
437. *Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **35**, 91—121 (1941).
438. *Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **35**, 294—314 (1941).
439. *Martin A. J. P., Synge R. L. M.*, Biochem. J., **35**, 1358—1368 (1941).
440. *May C. E., Rose E. R.*, J. biol. chem., **54**, 213—216 (1922).
441. *Mazur A.*, J. biol. chem., **118**, 631—634 (1937).

442. *Mazur A., Clarke H. T.*, J. biol. chem., **123**, 729—740 (1938).
443. *Mazur A., Clarke H. T.*, J. biol. chem., **143**, 39—42 (1942).
444. *McCarthy T. E., Sullivan M. X.*, J. biol. chem., **141**, 871—876 (1941).
445. *McChesney E. W.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and. Med., **32**. 94—95 (1934).
446. *McChesney E. W.*, J. Elisha Mitchell Sci. Soc., **51**, 147—150 (1935).
447. *McFarlane W. D., Fulmer H. L.*, Biochem. J., **24**, 1601—1610 (1930).
448. *McFarlane W. D., Fulmer H. L., Jukes T. H.*, Biochem. J., **24**, 1611—1631 (1930).
449. *McFarlane W. D., Guest G. H.*, Canad. J. Research, Sec. B, **17**, 139—142 (1939).
450. *Miller B. F., Muntz J. A.*, J. biol. chem., **126**, 413—421 (1939).
451. *Miller E. J.*, Biochem. J., **29**, 2344—2350 (1935).
452. *Miller E. J.*, Biochem. J., **30**, 273—279 (1936).
453. *Miller F. M., Lyons R. E.*, Pr. Ind. Acad. Sci., **43**, 132—135 (1934).
454. *Miller F. M., Lyons R. E.*, Pr. Ind. Acad. Sci., **45**, 151—156 (1936).
455. *Miller G. L., du Vigneaud V.*, J. biol. chem., **118**, 101—110 (1937).
456. *Millon M. E.*, C. r., **28**, 40—42 (1849).
457. *Milone H. S., Sullivan M. X.*, Med. Ann. Dist. of Columbia, **7**, 335—340 (1938).
458. *Milone H. S., Everitt E. L.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **51**, 82—83 (1942).
459. *Mirsky A. E., Anson M. L.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and. Med., **28**, 170—171 (1930—31).
460. *Mirsky A. E., Anson M. L.*, J. Gen. physiol., **18**, 307—323 (1934—35).
461. *Mirsky A. E.*, частное сообщение, сентябрь 1942.
462. *Mitchel H. H., Hamilton T. S.*, Chem. Catalogue Co. N. Y. 1929, 6191 p.
463. *Mörner K. A. H.*, Z. physiol. Ch., **34**, 207—338 (1901—02).
464. *Mohler M. E.*, Bull. Soc. chim., **3**, 414—416 (1890).
465. *Moore S., Stein W. H., Bergmann M.*, Chem. Rew., **30**, 423—432 (1942).
465A. *Moore S., Stein W. H.*, J. biol. chem., **150**, 113—130 (1943).
466. *Mourot G. Hoffer O.*, Bull. Soc. chim. biol., **20**, 274—292 (1938).
467. *Mulder G. J.*, Lieb. Ann., **28**, 73—82 (1838).
468. *Müller E.*, Z. physiol. Ch., **268**, 245—250 (1941).
469. *Murrill W. A., Block W. D., Newburgh L. H.*, J. biol. chem., **133**, 521—527 (1940).
470. *Murrill W. A., Block W. D.*, Arch. biochem., **1**, 365—368 (1943).
471. *Narâyana N., Sreenivasaya M.*, Biochem. J., **22** 1135—1137 (1928).
472. *Nasse O.*, Arch. f. ges. Physiol., **83**, 361—368 (1901).
473. *Neuberg C., Kerb J.*, Biochem. Z., **40**, 498—512 (1912).
474. *Neuberger A., Sanger F.*, Biochem. J., **36**, 662—671 (1942).
475. *Nicolet B. H., Saidel L. J.*, J. biol. chem., **139**, 477—478 (1941).
476. *Nicolet B. H., Shinn L. A.*, J. biol. chem., **139**, 687—692 (1941).
476A. *Nicolet B. H., Shinn L. A.*, J. Am. Soc., **63**, 1486 (1941).
477. *Nicolet B. H., Shinn L. A.*, J. biol. chem., **142**, 139—146 (1942).
478. *Nicolet B. H.*, частное сообщение, апрель 1942.
479. *Nicolet B. H., Shinn L. A., Saidel L. J.*, Am. Chem. Soc. Abstr., September 22—23B (1942).
480. *Nicols R. R., Eckert H. W.*, N. Y. State Dept. of Health, Ann. Rept. 26—27 (1941).
481. *Oesper R. E., Deasy C. L.*, J. Am. Soc., **61**, 972—973 (1939).
482. *Okuda Y.*, J. Biochem. (Japan), **5**, 217—227 (1925).
483. *Onslow H.*, Biochem. J., **15**, 383—391 (1921).
484. *Onslow H.*, Biochem. J., **15**, 392—399 (1921).
485. *Onslow H.*, Biochem. J., **18**, 63—84 (1924).
486. *Opsahl J. C., Arnow L. E.*, J. Am. Soc., **64**, 2035—2039 (1942).
487. *Orglmeister G.*, Beitr. chem. physiol. Pathol., **7**, 21—30 (1905).
488. *Osborne T. B., Gilbert R. D.*, Am. J. physiol., **15**, 333—356 (1906).

489. *Osborne T. B., Clapp S. H.*, Am. J. physiol., **17**, 231—265 (1906—07).
490. *Osborne T. B., Clapp S. H.*, Am. J. physiol., **20**, 477—493 (1907—08).
491. *Osborne T. B., Heyl F. W.*, J. biol. chem., **5**, 187—195 (1908—09).
492. *Osborne T. B., Heyl F. W.*, J. biol. chem., **5**, 197—205 (1908—09).
493. *Osborne T. B., Heyl F. W.*, Am. J. physiol., **23**, 81—89 (1908—09).
494. *Osborne T. B., Leavenworth C. S., Brautlecht C. A.*, Am. J. physiol., **23**, 180—200 (1908—09).
495. *Osborne T. B., Jones D. B.*, Am. J. physiol., **24**, 153—160 (1909).
496. *Osborne T. B., Jones D. B.*, Am. J. physiol., **24**, 161—169 (1909).
497. *Osborne T. B., Jones D. B., Leavenworth C. S.*, Am. J. physiol., **24**, 252—262 (1909).
498. *Osborne T. B., Jones D. B.*, Am. J. physiol., **24**, 437—446 (1909).
499. *Osborne T. B., Jones D. B.*, Am. J. physiol., **26**, 212—228 (1910).
500. *Osborne T. B., Liddle L. M.*, Am. J. physiol., **26**, 295—304 (1910).
501. *Osborne T. B., Jones D. B.*, Am. J. physiol., **26**, 305—328 (1910).
502. *Osborne T. B., Guest H. H.*, J. biol. chem., **9**, 333—353 (1911).
503. *Osborne T. B., Guest H. H.*, J. biol. chem., **9**, 425—438 (1911).
504. *Osborne T. B., Mendel L. B.*, J. biol. chem., **17**, 325—349 (1914).
505. *Osborne T. B., Van Slyke D. D., Leavenworth C. S., Vinograd M.*, J. biol. chem., **22**, 259—280 (1915).
506. *Osborne T. B., Leavenworth C. S., Nolan L. S.*, J. biol. chem., **61**, 309—313 (1924).
507. *Osborne T. B.*, The Vegetable Proteins., Longmans, Green and Co., N. Y., 1924, 154 p.
508. *Padoa M. L.*, Ann. Chim. appl., **27**, 544—554 (1938), по Ch. A., **32**, 6297 (1938).
509. *Painter E. P., Franke K. W.*, J. biol. chem., **114**, 235—239 (1936).
510. *Palmer J. W., Smith E. M., Meyer K.*, J. biol. chem., **119**, 491—500 (1937).
511. *Patton A. R.*, J. biol. chem., **108**, 267—272 (1935).
512. *Patton A. R., Palmer L. S.*, J. Nutr., **11**, 129—134 (1936).
513. *Pauly H.*, Z. physiol. Ch., **42**, 508—518 (1904).
514. *Pauly H.*, Z. physiol. Ch., **94**, 284—290 (1915).
515. *Pauly H., Ludwig E.*, Z. physiol. Ch., **121**, 170—176 (1922).
516. *Peters J. B., Van Slyke D. D.*, Quantitative Clinical Chemistry, vol. II. Williams, Wilkins Co., Baltimore, Md., 616 p., 1932.
517. *Phelps I. K., Phelps M. A.*, Am. J. Science, **24**, 194—196 (1907).
518. *Plimmer R. H. A.*, Biochem. J., **10**, 115—119 (1916).
519. *Plimmer R. H. A., Phillips H.*, Biochem., J., **18**, 312—321 (1924).
520. *Plimmer R. H. A., Rosedale J. L.*, Biochem. J., **19**, 1004—1014 (1925).
521. *Plimmer R. H. A., Lowndes J.*, Biochem., J., **31**, 1751—1757 (1937).
522. *Plimmer R. H. A., Lowndes J.*, C. r. Lab. Carlsberg, **22**, 434—440 (1938).
523. *Plimmer R. H. A., Lawton J. H. T.*, Biochem. J., **33**, 530—542 (1939).
524. *Pollard A. Chibnall A. C.*, Biochem. J., **28**, 326—336 (1934).
525. *Pope C. G., Stevens M. F.*, Biochem. J., **33**, 1070—1077 (1939).
526. *Pottinger S. R., Harrison R. W., Anderson A. W.*, Effect of Method of Manufacture on the Composition of Haddock Fish-Meal Proteins. U. S. Dept. of Commerce, Investigational Rept., **31**, 1935.
527. *Pottinger S. R., Baldwin W. H.*, Proc. Sixth Pacific Sci. Congr., 453—459, 1939.
528. *Potts A. M., Gallagher T. F.*, J. biol. chem., **143**, 561—562 (1942).
529. *Pregl F.*, Z. physiol. Ch., **56**, 1—10 (1908).
530. *Prunty F. T. G.*, Biochem. J., **27**, 387—390 (1933).
531. *Przylecky St. J., Kasprzyk K.*, Biochem. Z., **289**, 242—250 (1936—37).
532. *Pucher G. W., Vickery H. B., Wakeman A. J.*, Ind. and Eng. Ch., An. Ed., **6**, 288—291 (1934).

533. *Pucher G. W., Sherman C. C., Vickery H. B.*, J. biol. chem., **113**, 235—245 (1936).
534. *Pucher G. W., Vickery H. B.*, Ind. and Eng. Ch., An. Ed., **12**, 27—29 (1940).
535. *Pucher G. W., Vickery H. B.*, Ind. and Eng. Ch., An. Ed., **13**, 412—415 (1941).
536. *Racker E.*, Biochem. J., **34**, 89—96 (1940).
537. *Rapoport S.*, Biochem. Z., **281**, 30—36 (1935).
538. *Rapoport S., Eichinger W.*, Biochem. Z., **289**, 288—289 (1936—37).
539. *Rapoport S.*, Biochem. Z., **289**, 406—410 (1936—37).
540. *Ratner S., Clarke H. T.*, J. Am. Soc., **59**, 200—206 (1937).
541. *Reach F.*, Virchow's Arch., **158**, 288—296 (1899).
542. *Rees H. C.*, Analyst, **61**, 160—164 (1936).
543. *Reiner M., Sobotka H.*, J. biol. chem., **100**, 779—781 (1933).
544. *Reiter C.*, Science, **88**, 379 (1938).
545. *Rhode E.*, Z. physiol. Ch., **44**, 161—170 (1905).
546. *Rimington C.*, Biochem. J., **24**, 1114—1118 (1930).
547. *Rittenberg D., Foster G. L.*, J. biol. chem., **133**, 737—744 (1940).
548. *Roche A.*, Bull. Soc. chim. biol., **16**, 270—284 (1934).
549. *Roche J., Jean G.*, C. r. Soc. Biol., **115**, 1645—1646 (1934).
550. *Roche J.*, Essai sur la biochemie générale et comparée des pigments respiratoires, Masson et Cie, Paris, 1936, 170 p.
551. *Roche J., Blanc-Jean G.*, C. r., **210**, 681—683 (1940), по Ch. A., **34**, 5102 (1940).
552. *Roche J., Mourgue M.*, Trav. Membres Soc. chim. Biol., **23**, 1329—1338 (1941), по Ch. A., **36**, 7036 (1942).
553. *Rosedale J. L., Da Silva G. A.*, Biochem. J., **26**, 369—376 (1932).
554. *Rosner L.*, J. biol. chem., **132**, 657—662 (1940).
555. *Ross A. F.*, J. biol. chem., **136**, 119—129 (1940).
556. *Ross A. F.*, J. biol. chem., **138**, 741—749 (1941).
557. *Ross A. F.*, J. biol. chem., **143**, 685—693 (1942).
558. *Rossouw S. D., Wilken-Jorden T. J.*, Biochem. J., **29**, 219—224 (1935).
559. *Ruhemann S.*, J. Chem. Soc. (Transactions), **99**, 792—800, 1486—1492 (1911).
560. *Rutherford H. A., Harris M., Steinhardt J., Harris M.*, J. Research N. B. S., **24**, 335—367 (1940).
561. *Rutherford H. A., Harris M., Smith A. L.*, J. Research N. B. S., **19**, 467—477 (1937).
562. *Sakaguchi S.*, J. Biochem. (Japan), **5**, 25—31 (1925).
563. *Sakaguchi S.*, J. Biochem. (Japan), **5**, 133—142 (1925).
564. *Sandstrom W. M., Lillivik H. A.*, Ind. and Eng. Chem., An. Ed., **13**, 781 (1941).
565. *Sato M., Hirano T., Kan T.*, Bull. Agr. Chem. Soc. (Japan), **15**, 123—124 (1939) по Ch. A., **34**, 3776 (1940).
566. *Schild E., Enders C.*, Biochem. Z., **286**, 220—224 (1936).
567. *Schoenheimer R., Ratner S., Rittenberg D.*, J. biol. chem., **130**, 703—732 (1939).
568. *Schöberl A., Rambacher P.*, Biochem. Z., **295**, 377—390 (1937—38).
569. *Schmidt C. L. A.*, The Chemistry of the Amino Acids and Proteins, Charles C. Thomas, Springfield, Ill, 1938, 1031 p.
570. *Schryver S. B., Buston H. W., Mukherjee D. H.*, Pr. Roy. Soc., Ser. B., **98**, 58—65 (1925).
571. *Schryver S. B., Buston H. W.*, Pr. Roy. Soc., Ser. B., **99**, 476—478 (1926).
572. *Schultz J., Vars H. M.*, Pr. Soc. biol. chem.; J. biol. chem., **140**, CXIII-CXIV (1941).
573. *Schulz F. N.*, Z. physiol. chem., **25**, 16—35 (1898).
574. *Schulze E., Barbieri J., Bosshard E.*, Z. physiol. chem., **9**, 63—126 (1885).
575. *Sharp J. G.*, Biochem. J., **33**, 679—693 (1939).

576. *Shaw J. L. D., McFarlane W. D.*, Canad. J. Research, **16B**, 361—368 (1938).
577. *Shaw J. L. D., McFarlane W. D.*, J. biol. chem., **132**, 387—392 (1940).
578. *Shinn L. A., Nicolet B. H.*, J. biol. chem., **138**, 91—96 (1941).
579. *Shinohara K., Kilpatrick M.*, J. biol. chem., **105**, 241—251 (1934).
580. *Shinohara K.*, J. biol. chem., **109**, 665—679 (1935).
581. *Shinohara K.*, J. biol. chem., **110**, 263—277 (1935).
582. *Shinohara K.*, J. biol. chem., **112**, 683—696 (1935).
582A. *Snell E. E., Wright L. D.*, J. biol. chem., **139**, 675—686 (1941).
583. *Sørensen M.*, C. r. Lab. Carlsberg, **22**, 487—493 (1938).
584. *Speakman J. B., Townend F.*, Nature, **139**, 411—412 (1937).
585. *Spies J. R.*, J. Am. Soc., **63**, 2994—2996 (1941).
586. *Stein W. H., Miller E. G.*, J. biol. chem., **125**, 599—614 (1938).
587. *Stein W. H., Bergmann M.*, J. biol. chem., **134**, 627—633 (1940).
588. *Stein W. H., Moore S., Stamm G., Chou C., Bergmann M.*, J. biol. chem., **143**, 121—129 (1942).
588A. *Stein W. H.*, Trans. Am. Soc. Cereal Chem., **57**, 11—25 (1943).
589. *Steinhardt J., Fugitt C. H.*, J. Research N. B. S., **29**, 315—327 (1942).
590. *Stern A., Beach E. F., Macy I. G.*, J. biol. chem., **130**, 733—740 (1939).
591. *Stern A., Beach E. F.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **43**, 104—108 (1940).
592. *Steudel H.*, Biochem. Arbeitsmethoden (E. Abderhalden), 1923, Abschn. 1, Teil. 7, 203—224.
593. *Steudel H., Osato S.*, Z. physiol. Ch., **127**, 220—223 (1923).
594. *Strain H. H.*, Chromatographic Adsorption Analysis Interscience Publishers, N. Y., 1942, 222 p.
595. *Sullivan M. X.*, Pub. Health Reps. U. S. P. H. S., **41**, 1030—1056 (1926).
596. *Sullivan M. X., Hess W. C.*, Pub. Health Reps. U. S. P. H. S., 1930, supp. 86, 1—11.
597. *Sullivan M. X., Hess W. C.*, J. biol. chem., **116**, 221—232 (1936).
598. *Sullivan M. X., Hess W. C.*, J. biol. chem., **117**, 423—428 (1937).
599. *Sullivan M. X., Milone H. S., Everitt E. L.*, J. biol. chem., **125**, 471—474 (1938).
600. *Sullivan M. X., Hess W. C., Smith E. R.*, J. biol. chem., **130**, 741—744 (1939).
601. *Sullivan M. X., Hess W. C., Howe P. E.*, J. Agri Research., **61**. 877—886 (1940).
602. *Sullivan M. X., Hess W. C., Howard H. W.*, J. biol. chem., **145**, 621—624 (1942).
603. *Teruuchi Y., Okabe L.*, J. Biochem. (Japan), **8**, 459—467 (1928).
604. *Theis E. R., Jacoby T. F.*, J. biol. chem., **146**, 163—169 (1942).
605. *Theorell H., Åkesson Å.*, J. Am. Chem. Soc., **63**, 1804—1811 (1941).
606. *Thimann K. V.*, Biochem. J., **24**, 368—378 (1930).
607. *Thomas L. E., Ingalls J. K., Luck J. M.*, J. biol. chem., **129**, 263—271 (1939).
608. *Thomas P.*, Ann. Inst. Pasteur, **34**, 701—708 (1920).
608A. *Thompson W. T.*, Chem. and Eng. News, **21**, 1662 (1943).
609. *Tiselius A.*, Science, **94**, 145—146 (1941).
610. *Tiselius A.*, Ark. Kemi, Mineral. o. Geol., **15B**, 1—5 (1941).
611. *Tiselius A., Kraemer E. O.*, Advances in Colloid Science, Interscience Publishing Co., N. Y., 1942, 434 p.
612. *Toennies G.*, The Sulfur Containing Amino Acid Methionine. Growth 1937, **1**, 337—370.
613. *Toennies G.*, J. biol. chem., **145**, 667—670 (1942).
614. *Tomiyama T., Shigematsu S.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., 32, 446—449 (1934—35).
615. *Tompsett S. L.*, Biochem. J., **25**, 2014—2016 (1931).
616. *Town B. W.*, Biochem. J., **22**, 1083—1086 (1928).

617. *Town B. W.*, Biochem. J., **30**, 1833—1836 (1936).
618. *Toyoda H.*, Bull. Chem. Soc. (Japan), **9**, 263—268 (1934).
619. *Tristram G. R.*, Biochem. J., **33**, 1271—1283 (1939).
620. *Tristram G. R.*, Biochem. J., **34**, 301—306 (1940).
621. *Tuchman L. R.*, *Reiner M.*, J. biol. chem., **100**, 775—778 (1933).
622. *Turba F.*, Ber., **74B**., 1829—1838 (1941), по Ch. A., **36**, 5494 (1942).
623. *Tutiya Y.*, J. Agr. Chem. Soc. (Japan), **17**, 48—49 (1941), по Ch. A., **36**, 3752 (1942).
624. *Urbach C.*, Biochem. Z., **236**, 164—173 (1931).
625. *Urban F. F.*, Biochem. Z., **283**, 435—453 (1936).
626. *Ussing H. H.*, Nature, **144**, 977 (1939).
627. *Van Slyke D. D.*, Ber., **43**, 3170—3181 (1910).
628. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **9**, 185—204 (1911).
629. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **9**, 205—207 (1911).
630. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **10**, 15—55 (1911—12).
631. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **16**, 531—538 (1913—14).
632. *Van Slyke D. D.*, *Birchard F. J.*, J. biol. chem., **16**, 539—547 (1913—14).
633. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **22**, 281—285 (1915).
634. *Van Slyke D. D.*, J. biol. chem., **23**, 411 (1915).
635. *Van Slyke D. D.*, *Hawkins J. A.*, J. biol. chem., **79**, 739—767 (1928).
636. *Van Slyke D. D.*, *Dillon R. T.*, C. r. Lab. Carlsberg, **22**, 480—486 (1938).
637. *Van Slyke D. D.*, *Dillon R. T.*, *MacFad en D. A.*, *Hamilton P.*, J. biol. chem., **141**, 627—669 (1941).
638. *Van Slyke D. D.*, *MacFadyen D. A.*, *Hamilton P.*, J. biol. chem., **141**, 671—680 (1941).
639. *Van Slyke D. D.*, *Hiller A.*, *MacFadyen D. A.*, J. biol. chem., **141**, 681—705 (1941).
640. *Van Slyke D. D.*, *Hiller A.*, *Dillon R. T.*, J. biol. chem., **146**, 137—157 (1942).
641. *Vassel B.*, J. biol. chem., **140**, 323—336 (1941).
642. *Vickery H. B.*, *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **72**, 403—413 (1927).
643. *Vickery H. B.*, *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **86**, 707—722 (1928).
644. *Vickery H. B.*, *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **78**, 627—635 (1928).
645. *Vickery H. B.*, *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **79**, 377—388 (1928).
647. *Vickery H. B.*, *Leavenworth C. S.*, J. biol. chem., **83**, 523—534 (1929).
648. *Vickery H. B.*, *Block R. J.*, J. biol. chem., **86**, 107—111 (1930).
649. *Vickery H. B.*, *Schmidt C. L. A.*, Chem. Rev., **9**, 169—318 (1931).
650. *Vickery H. B.*, *Block R. J.*, J. biol. chem., **93**, 105—112 (1931).
651. *Vickery H. B.*, *Shore A.*, Biochem. J., **26**, 1101—1106 (1932).
652. *Vickery H. B.*, *White A.*, J. biol. chem., **99**, 701—715 (1932—33).
653. *Vickery H. B.*, *White A.*, Pr. Soc. Exp. Biol. and Med., **31**, 6—7 (1933—34).
654. *Vickery H. B.*, *White A.*, J. biol. chem., **103**, 413—415 (1933).
655. *Vickery H. B.*, C. r. Lab. Carlsberg, **22**, 519—527 (1938).
656. *Vickery H. B.*, J. biol. chem., **132**, 325—342 (1940).
657. *Vickery H. B.*, *Smith E. L.*, *Hubbell R. B.*, *Nolan L. S.*, J. biol. chem., **140**, 613—624 (1941).
658. *Vickery H. B.*, J. biol. chem., **143**, 77—87 (1942).
659. *Vickery H. B.*, J. biol. chem., **144**, 719—730 (1942).
660. *du Vigneaud V.*, *Jensen H.*, *Wintersteiner O.*, J. Pharm. and Exp. Therap., **32**, 367—385 (1927—28).
661. *du Vigneaud V.*, *Miller G. L.*, *Rodden C. J.*, J. biol. chem., **131**, 631—640 (1939).
662. *Virtanen A. I.*, *Laine T.*, Nature, **142**, 754 (1938).
663. *Virtanen A. I.*, *Laine T.*, *Toivonen T.*, Z. physiol. Ch., **266**, 193—204 (1940).
664. *Virtue R. W.*, *Lewis H. B.*, J. biol. chem., **104**, 415—421 (1934).
665. *Voisenet M. E.*, Bull. Soc. chim., **33**, 1198—1214 (1905).

666. *Vorländer D.*, Z. anal. Ch., 77, 241—268 (1929).
667. *Wachtel J. L.*, *Cassidy H. G.*, J. Am. Soc., **65**, 665—668 (1943).
668. *Waelsch H.*, *Klepetar, G.*, Z. physiol. Ch., **211**, 47—56 (1932).
669. *Wakamatu S.*, J. Agr. Chem. Soc. (Japan), **15**, 915—920 (1939), по Ch. A., 34, 1367 (1940).
670. *Wakeman A. J.*, Z. physiol. Ch., **44**, 341 (1905).
671. *Waldschmidt-Leitz E.*, *Akabori, S.*, Z. physiol. Ch., **224**, 187—192 (1934).
672. *Webb M.*, *Block R. J.*, Неопубликовано.
673. *Weber C. J.*, J. biol. chem., **86**, 217—222 (1930).
674. *Weiss M.*, *Sobolew N.*, Biochem. Z., **58**, 119—129 (1913—14).
675. *Weiss M.*, Biochem. Z., **97**, 170—175 (1919).
676. *Whitehorn J. C.*, J. biol. chem., **56**, 751—764 (1923).
678. *Wilkerson V. A.*, J. biol. chem., **107**, 37—38 (1934).
679. *Wilkerson V. A.*, *Tulane V. J.*, J. biol. chem., **129**, 477—479 (1939).
680. *Wilson H.*, *Cannan R. K.*, J. biol. chem., **119**, 309—331 (1937).
681. *Wilson R. H.*, *Lewis H. B.*, J. biol. chem., **73**, 543—553 (1927).
682. *Winkler S.*, Z. physiol. Ch., **228**, 50—60 (1934).
683. *Winnick T.*, J. biol. chem., **141**, 115—120 (1941).
684. *Winnick T.*, J. biol. chem., **142**, 451—459 (1942).
685. *Winnick T.*, J. biol. chem., **142**, 461—466 (1942).
686. *Winterstein E.*, Z. physiol. Ch., **34**, 153—156 (1901—02).
687. *Woodward G. E.*, *Reinhart F. E.*, *Dohan J. S.*, J. biol. chem., **138**, 677—688 (1941).
688. *Woodward G. E.*, *Reinhart F. E.*, J. biol. chem., **145**, 471—480 (1942).
689. *Wooley D. W.*, *Peterson W. H.*, J. biol. chem., **121**, 507—520 (1937).
690. *Wooley D. W.*, Ind. and Eng. Ch., An. Ed. **9**, 433 (1937).
691. *Wooley D. W.*, *Peterson W. H.*. J. biol. chem., **122**, 207—211 (1937—38).
692. *Wretlind K. A. J.*, Acta physiol. Scand., **3**, 329—334 (1942), по Ch. A., 36, 7047 (1942).
693. *Wu H.*, J. biol. chem., **43**, 189—220 (1920).
694. *Young E. G.*, *Inman W. R.*, J. biol. chem., **124**, 189—193 (1938).
695. *Zahnd H.*, *Clarke H. T.*, J. biol. chem., **102**, 171—186 (1933).
696. *Зелинский Н.*, *Анненков А.*, *Куликов И.*, Z. physiol. Ch., **73**, 459—470 (1911).
697. *Zimmermann W.*, Z. physiol. Ch., **189**, 4—6 (1930).
698. *Zittle C. A.*, *O'Dell R. A.*, J. biol. chem., **139**, 753—759 (1941).
699. *Цуверкалов Д.*, Z. physiol. Ch., **163**, 185—192 (1927).

ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абдергальден Е. — 22, 34, 86, 93, 96, 126, 127, 132, 139, 142, 143, 144, 145, 147, 153, 154, 159, 160, 161, 166, 170, 174, 175, 177, 237, 246, 272, 278, 295, 296, 297, 298, 304, 317, 318, 320, 326, 333, 334, 335, 336, 337, 346, 347, 348, 349
Агрен Г. — 52, 158, 233, 317, 346
Адерс Р. Г. — 276, 294
Айгингер В. — 120
Айри К. А. — 32, 81, 88, 99, 101
Акабори С. — 343, 344, 346, 348
Александровская Н. С. — 106
Альбанес А. А. — 43, 65, 68, 88, 96, 122, 138, 164
Андерсон А. В. — 156, 232, 246
Анненков А. — 354
Ансон М. Л. — 192, 194
Арджирис А. — 84, 161, 238
Аримо А. А. — 313, 314
Ариэль С. — 335, 354
Арнольд В. — 208
Арноу Л. Е. — 136, 152, 309, 310, 318

Б

Байэл — 263
Балинт М. — 143, 145, 146, 224, 225
Балинт П. — 126, 143, 145, 146, 193, 194, 224, 225
Барбери И. — 45, 132, 133
Барджер Ж. — 211
Баркер С. Б. — 260, 331
Барнс — 152
Барнштейн Х. Д. — 207, 211, 212, 213, 219, 221, 223, 228, 229, 230, 235, 240, 242, 246, 249, 250, 253, 254, 256
Барритт Д. — 235
Бассит Д. — 18
Бастиан А. — 341
Бастиан М. А. — 341, 346
Башилл Д. Х. — 200, 201
Беверидж Д. М. — 205
Бейлей К. — 168, 169, 171, 174, 186, 188, 212, 214, 235, 236, 239, 245, 246, 247, 250, 252
Бейтс Р. В. — 120
Бенедикт С. Р. — 24, 116
Беннет М. А. — 253
Берг К. П. — 58, 89, 259, 263, 264, 271, 273
Бергель П. — 279
Бергман М. — 68, 69, 86, 161, 221, 279, 317, 323, 324, 328, 333, 334, 341, 343, 346, 357
Бернгарт Ф. У. — 78, 112, 124, 152
Бидль Г. У. — 350
Биркофер Л. — 214
Бич Е. Ф. — 73, 74, 87, 88, 90, 92, 93, 94, 96, 106, 147, 148, 162, 164, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 174, 215, 216, 219, 222, 223, 226, 229, 240, 241, 242, 243, 244, 250, 253
Блау Н. Ф. — 136
Блок Р. Д. — 22, 23, 34, 36, 45, 58, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 78, 79, 83, 84, 85, 86, 87, 91, 103, 106, 107, 109, 110, 120, 124, 128, 131, 133, 135, 142, 146, 148, 149, 150, 159, 160, 161, 162, 184, 193, 196, 221, 225, 228, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 258, 560, 263, 265, 270, 271, 281, 283, 309, 330, 334, 351, 360, 376
Блок У. Д. — 70, 71, 72, 84, 145, 146, 147, 159, 160, 224, 225, 226, 234, 236, 317, 334, 347
Блюменталь Д. — 188, 230, 235, 237, 241, 242, 257
Боварник М. — 312
Бойд М. Д. — 267, 270, 271
Бойд У. Д. — 121, 356
Бойлэнд Е. — 307, 308, 318, 319, 320
Боллинг Д. — 22, 71, 73, 83, 86, 87, 91, 106, 107, 109, 110, 120, 131, 133, 135, 146, 148, 150, 161, 162, 167, 185, 193, 196, 225, 228, 233, 238, 239, 244, 258, 260, 263, 265, 270, 271, 282, 283, 330, 334
Боллс А. К. — 100, 173, 248

Боно А. — 46
Борсук Г. Д. — 52
Борчерс Р. — 259, 263, 264, 271, 273
Боссгард Е. — 45, 132, 133
Бразье М. А. Б. — 104, 181, 278, 299, 320, 336, 341, 349, 359
Брайс А. Т. — 116
Бранд Е. — 70, 82, 91, 137, 141, 152, 158, 167, 194, 210, 214, 223, 229, 233, 241, 242, 243, 244, 270
Браун У. Л. — 96, 101, 253, 273
Браутлехт К. А. — 17, 18, 78, 89, 96, 100, 101, 104
Брдичка Р. — 207, 223, 224, 229, 234, 235
Буман Е. Ф. — 200
Бэкер Л. К. — 200, 201

В

Вайс М. — 112, 113
Вайс Ф. Т. — 263, 294
Вакамату С. — 318, 335, 347
Вальдшмидт-Лейтц Е. — 343, 344, 346, 348
Ван-Сляйк Д. Д. — 23, 35, 37, 40, 41, 42, 59, 60, 61, 62, 66, 68, 84, 87, 89, 90, 91, 96, 97, 100, 104, 207, 276, 277, 297, 300, 309, 328, 332, 338, 347
Вахтель Д. Л. — 359
Вейль А. — 132, 278, 304
Вендель А. — 278, 356
Вест Е. С. — 60, 322
Вест Р. — 341
Викери Х. Б. — 18, 21, 22, 27, 34, 50, 66, 68, 69, 78, 83, 84, 86, 90, 96, 97, 100, 101, 104, 178, 184, 205, 221, 235, 237, 242, 243, 250, 251
Вильямс Г. Г. — 73, 74, 88, 96, 147, 148, 164, 166, 174, 222, 223, 226, 240, 250
Вильямс Е. Ф. — 303, 307, 308, 309, 317, 318, 319, 320, 321, 353
Винклер С. — 116
Винтерштейн Е. — 14, 23, 37, 39, 40, 190, 277
дю-Виньо — 79, 186
Виртанен А. И. — 154, 181, 229, 257, 289, 295, 297, 299, 331, 333, 335, 336, 355
Виртю Р. У. — 198
Вуазенэ М. Е. — 117, 120
Вью Г. — 126, 182, 190, 191, 192, 195

Г

Габерман Д. — 132, 276, 304
Гамильтон Т. С. — 107, 108, 353
Гарден А. — 45
Гаусман У. — 36
Гейльброн И. М. — 281, 361
Гейнрих Е. — 80, 155, 177, 178
Гейц Р. — 269, 281, 283, 287, 316, 329, 330, 332
Геллерман Л. — 210, 229
Гернгросс О. — 114, 139, 141, 159, 160
Герриотт Р. М. — 81, 88, 157, 182, 233, 317, 353
Герфельт Т. — 114, 139, 141, 159, 160
Гесс У. К. — 85, 187, 207, 229, 235, 237, 241, 242, 243, 246, 247, 250, 251, 253, 254, 256
Гест Г. Г. — 335, 345, 347
Геффтер А. — 109, 209
Гиллер А. — 35, 37, 40, 41, 62, 66, 78, 84, 89, 90, 91, 97, 100, 104
Глазивец Г. — 132, 276, 304
Гольм Г. Е. — 118, 141, 164
Гомер А. — 108, 121, 164, 182
Гопкинс Ф. Г. — 22, 72, 112, 114, 115, 117, 147, 165, 226, 295, 317, 346
Гордон А. Г. — 43, 84, 96, 138, 159, 174, 235, 250, 294, 296, 300, 301, 302, 317, 320, 333, 334, 336, 348, 349, 361, 362
Гордон И. И. — 330
Гордон С. А. — 108, 361, 362
Горнолл А. Г. — 63
Гофман О. Д. — 73, 74, 88, 90, 147, 148, 164, 167, 226, 241, 242, 243
Гоффер О. — 33
Гочкис Р. Д. — 108, 172, 173, 336
Графф А. М. — 47, 65, 84, 89, 90, 96, 204, 205, 225, 230, 235, 241, 242, 251, 253
Графф С. — 47, 65, 84, 89, 90, 96, 204, 205, 225, 230, 235, 241, 242, 251, 253, 319
Гринбенк Г. Р. — 118, 141, 164
Гринштейн Д. Р. — 162, 239
Гросс Р. Е. — 17, 18, 49, 50, 65, 89, 96, 101, 106
Гуд Д. Б. — 364
Гулевич В. — 14, 18, 34
Гулланд И. М. — 303
Гуревич — Д. И. — 169
Гурин С. — 354, 364
Гутри И. Д. — 229
Гэпферт Г. И. — 312

Д

Девайн Д. — 34, 72, 130, 131, 147, 226, 346
Дезео Д. — 124, 126, 143, 145, 146, 164
Декин Г. Д. — 35, 65, 115, 138, 164, 181, 294, 299, 303, 315, 316, 318, 320, 323, 333, 335, 338, 339, 341, 346, 347, 349, 355
Денюэль П. — 42, 134, 329, 330, 332, 335, 336, 337, 344
Джервис Г. А. — 71, 73, 87, 106, 107, 109, 135, 146, 148, 150, 167, 225, 228, 239, 258, 270, 271
Джильсон Л. Е. — 351
Джонс Д. Б. — 43, 88, 99, 101, 138, 141, 152, 153, 165, 167, 168, 171, 174, 175, 177, 180, 221, 229, 230, 243, 245, 246, 251, 252, 253, 271, 273, 298, 300, 301, 306, 318, 319, 320, 321, 335
Джонс К. О. — 101, 167, 177, 271, 273, 298, 300, 301, 318, 319, 320, 335, 337, 348, 349, 354
Джорпс Е. — 52, 56, 68, 71, 73, 107, 109, 126, 141, 142, 143, 144, 147
Джюкс Т. Г. — 79, 153, 230, 295, 307, 317, 334, 347
Дизи К. Л. — 260
Диллон Р. Т. — 35, 37, 40, 59, 60, 309, 332
Димик К. Р. — 60, 322
Дише З. — 118, 119, 120, 138, 143, 144, 152, 174, 364
Дофинэ — 47, 48, 49, 54, 65, 68, 69, 78, 89, 96, 97, 107
Дубнов Д. У. — 44, 52, 53
Дюмазер Ц. — 52, 69

Е

Енсен Г. — 81, 157, 317

Ж

Жан Г. — 46, 52

З

Зангер Ф. — 290, 332
Зелинский Н. Д. — 354

И

Игрю Е. — 260, 315, 332
Инг Г. Р. — 357, 373
Инголлс Д. К. — 52, 71, 72, 81, 87, 89, 96

К

Каветт Д. У. — 42, 70, 71, 82, 88, 89, 96, 100, 158
Кан Т. — 46
Кандату М. — 92, 168
Капеллер-Адлер Р. — 57, 58, 68, 89, 133, 134, 138, 139, 142, 165, 174, 181
Капланский С. Я. — 150, 228, 335
Капфгаммер И. — 339, 341
Каррер Р. — 110, 177, 248, 301, 349
Каспшик К. — 357
Кассель В. — 70, 82, 91, 137, 141, 152, 158, 167, 194, 210, 214, 223, 229, 233, 241, 242, 243, 244, 275
Катаока Е. — 126, 182
Катч Д. Р. — 281, 361
Келер А. Е. — 42
Кемпе М. — 127
Кендаль А. И. — 328, 329
Кендрик А. Б. — 41
Кери К. А. — 115
Кесслер К. К. — 55, 68, 69, 89, 113
Кик М. К. — 102, 105, 178, 254
Кильпатрик М. — 208
Кинг Е. Д. — 197
Кингстон Г. И. — 316, 323, 333, 346, 353
Кич В. К. — 47
Кланси В. Д. — 86, 318, 334, 347
Кларк Г. Т. — 32, 37, 87, 94, 172, 182, 188, 190, 192, 230, 235, 319, 336, 348
Клей Р. К. — 234
Клейн Г. — 326, 327
Клейншмитт А. — 101, 177, 300, 320, 327, 349
Кноп Ф. — 57
Ковакс Е. — 165, 166
Койн Ф. П. — 211
Колвери Г. О. — 22, 23, 67, 71, 72, 78, 79, 81, 82, 85, 88, 140, 144, 147, 150, 153, 154, 157, 160, 220, 224, 226, 229, 230, 233, 237, 303, 317, 318, 346, 347, 353
Коле С. У. — 22, 112, 114, 115, 117, 165
Коллэн Т. П. — 210
Кольман Г. — 133, 138, 141, 142, 165, 175, 177, 181
Комм Е. — 119, 141, 143, 144, 153, 154, 168
Конвей Е. Д. — 265, 331
Кондритцер А. А. — 281, 283
Конрад Р. М. — 58, 89

Коссель А. — 13, 16, 17, 18, 21, 34, 37, 49, 50, 65, 89, 96, 97, 101, 104, 106, 107, 114, 294
Кох Ф. — 82
Коэн П. П. — 303, 310, 312
Краус И. — 108, 114, 118, 119, 127, 138, 165, 175, 177, 178, 181
Крафт Л. — 260
Крейджи Р. — 260
Крийгсман Б. И. — 200
Кристенсен Б. Е. — 60, 322
Кристенсен Г. Н. — 172, 272, 336, 348
Кришнасвами Т. К. — 208
Крофт Г. Д. — 324
Ксонка Ф. А. — 43, 89, 95, 98, 99, 102, 103, 105, 164, 173, 178, 179, 180, 181, 241, 248, 249, 254, 255, 256, 259
Куастель Д. Г. — 330
Куикен К. А. — 291, 363
Кук А. Г. — 281, 361
Кук К. — 234
Кук К. А. — 285
Кун Р. — 42, 82, 87, 89, 134, 163, 165, 173, 214, 221, 222, 229, 230, 232, 240, 241, 248, 319, 344, 349
Кучер Ф. — 13, 18, 21, 34, 37, 65, 97, 104, 107
Кэннан Р. К. — 91, 315, 360

Л

Лавров Д. — 16, 20, 30, 34
Лагг Д. У. — 94, 104, 108, 109, 124, 127, 128, 137, 165, 172, 175, 176, 182, 185, 187, 192, 194, 200, 202, 250, 251, 252, 257
Лак Ц. М. — 47
Ланг К. — 45, 56, 70, 71, 89, 343, 344, 346, 348
Лапрайк У. — 324
Левайн Т. Ф. — 198, 217, 218, 229, 241, 243
Левин П. А. — 276, 277, 294, 297, 300, 322, 328
Лейман К. М. — 275, 291, 294, 297, 300, 301, 302, 363
Лейперт Т. — 113
Лен Т. — 181, 256, 320, 336
Ленглей У. Д. — 58
Ли К. Г. — 82, 131, 158, 233
Ли У. К. — 162, 168, 184, 239, 245, 258
Либен Ф. — 61, 66, 89, 97, 104
Ливенуортс К. С. — 18, 20, 21, 68, 84, 89, 96, 153, 276, 295, 317, 334, 346
Лилливик Г. А. — 325
Лисицын М. А. — 106
Лок К. — 68, 70, 71
Лу И. С. — 61, 66, 89, 97, 104
Льюис Х. Б. — 84, 159, 160, 234, 236, 237, 317, 334, 347
Лэмпитт Л. Х. — 200, 201
Лэн Т. — 181, 198, 217, 218, 229
Людвиг Е. — 364
Люкас К. К. — 197, 205
Люней Д. М. — 114, 123, 124, 138, 141, 145, 147, 152, 159, 160, 164, 174, 175, 180, 190, 219, 226, 234, 235, 237, 241, 250, 251, 256
Ляйонс Р. Е. — 109, 121
Ляйонс У. Р. — 131, 158, 233
Ляутеншлейгер К. Л. — 89

М

Майер К. — 365
Мак-Карти Т. Е. — 216, 241, 250
Макфарлен У. Д. — 124, 131, 153, 155, 156, 165, 186, 230, 344, 345, 346, 347
Макферсон Г. Т. — 53, 56
Мак-Фэдьин — 35, 37, 41, 59, 60, 62, 66, 78, 84, 89, 309, 332
Макчесней Е. У. — 316, 329
Малапрад М. Л. — 263
Маренци А. Д. — 107, 109, 123, 124, 126, 142, 143, 152, 153, 168, 174, 175, 177, 181, 191, 192, 196, 223, 229, 241, 250, 251, 255, 256
Мартин А. И. — 43, 84, 96, 138, 159, 174, 235, 250, 294, 296, 300, 301, 302, 317, 320, 333, 334, 336, 348, 349, 361, 362
Мернер К. А. Г. — 208, 223, 224, 234, 237
Миллер Б. Ф. — 260, 261
Миллер Г. Л. — 186, 232
Миллер Е. Д. — 31, 34, 97, 98, 307, 320, 339, 349
Миллер Ф. М. — 109, 121
Миллон М. Е. — 111, 123, 127
Миннибек Г. — 339, 346, 347, 349
Мирский А. Е. — 184, 186, 192, 194, 224
Митчелл Г. Г. — 107, 108, 353
Молер М. Е. — 133
Морган У. Т. — 365
Моррис К. И. О. Р. — 363
Мульдер Г. Д. — 188
Мунтц Д. А. — 260, 261
Мург М. — 281, 283, 295, 297, 300
Муро Г. — 33

Мэзур А. — 32, 37, 87, 94, 172, 182, 247, 248, 319, 336, 348
Мэй К. Е. — 118, 120, 138, 153, 165, 167, 173, 175, 177, 180, 181
Мэси И. Г. — 73, 74, 88, 90, 96, 147, 148, 164, 166, 167, 174, 222, 223, 226, 240, 241, 242, 250
Мюккерджи Д. Г. — 61, 66, 356
Мюрриль У. А. — 70, 71, 72, 145, 146, 147, 224, 225, 226

Н

Найт К. А. — 36, 99, 100, 110, 135, 179
Нарайян Н. — 42, 65, 89
Нассе А. — 111, 123, 127
Нейберг К. — 290, 332
Нейбергер А. — 290, 332
Нейман А. — 326
Николе Б. Г. — 259, 264, 266, 267, 270, 271
Никольс Р. Р. — 122
Ниман С. — 68, 69, 86, 161, 221, 317, 324, 328, 334, 346
Норман У. Г. — 291, 363
Норрис Д. — 45
Нортруп Д. Г. — 81, 88, 157, 233, 317, 353

О

О-Дэлл Р. А. — 202, 204, 205, 223
Окабе Л. — 197
Олвинг А. С. — 186, 224
Олкок Р. — 113
Оллертон Д. — 229
Олмквист Х. Д. — 232, 253
Олькотт Г. С. — 100, 110, 135, 177, 273, 300
Онслоу Г. — 108, 165, 182
Опсэл И. — 309, 310, 318
Орглмайстер Г. — 45, 89
Осборн Т. Б. — 17, 18, 61, 78, 79, 89, 90, 92, 93, 95, 96, 97, 99, 100, 101, 102, 104, 105, 132, 153, 165, 168, 169, 170, 173, 175, 180, 181, 206, 276, 278, 295, 297, 298, 299, 300, 301, 304, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 335, 336, 337, 348, 349, 354
Оспер Р. Е. — 261

П

Падоа М. Л. — 99, 180, 255, 301, 337, 349
Пальмер Д. У. — 365
Пальмер Л. С. — 67, 154, 333
Паттен А. И. — 16, 21, 96
Паттон Л. Р. — 67, 154, 327, 333, 334, 335, 336, 337
Паули Г. З. — 17, 54, 113, 364
Пейнтер Е. П. — 219
Петерс У. Б. — 49, 264, 329
Петерсон У. Г. — 58, 103, 181, 278, 301, 320, 349, 355
Петигрю И. Б. — 49
Плиммер Р. Г. А. — 22, 42, 58, 89, 90, 165, 166, 167, 186, 241, 243, 244, 257, 335
Погги Р. — 52, 69
Поллард А. — 186, 200, 251
Полмс Е. Д. — 187, 254
Поп К. Г. — 297, 352
Поттингер С. Р. — 78, 89, 92, 93, 94, 153, 156, 165, 168, 170, 171, 232, 241, 245, 246, 247
Поттс А. — 14, 82, 158, 233
Прегль Ф. — 85, 161, 318, 334, 347
Прингль Х. — 17
Прэнти Ф. Т. Р. — 200, 242, 243, 256
Пучер Г. В. — 309, 310, 312
Пшилецкий С. Д. — 357

Р

Райнер М. — 143, 144, 145, 223, 224
Райтер К. — 153
Ракер Е. — 58
Ранк Б. — 260
Рапопорт С. — 120, 269, 328
Резерфорд Г. А. — 84, 159
Рейнгарт Ф. Е. — 303, 310, 312, 319
Римингтон К. — 192
Рис Г. К. — 92
Рис М. У. — 303, 307, 308, 309, 317, 318, 319, 320, 321
Риттенберг Д. — 317, 333, 358
Рич Ф. — 165
Роде — 117, 165
Розедэл Д. Л. — 42
Роснер Л. — 209, 210
Росс А. Ф. — 99, 131, 179, 272, 301, 320, 336, 348
Россов С. Д. — 201, 202
Роуз Е. Р. — 118, 120, 138, 153, 165, 167, 173, 175, 177, 180, 181
Руэман С. — 59, 331, 355
Рэтлинд К. А. Д. — 290

С

Сайндж — 43, 84, 96, 138, 159, 174, 235, 250, 294, 296, 300, 301, 302,

317, 320, 333, 334, 336, 348, 349, 361, 362
Сакагучи С. — 44, 51, 65, 68, 70, 78, 79, 89, 96, 97, 104
Салливан М. К. — 83, 84, 131, 166, 187, 199, 202, 203, 223, 224, 235, 237, 238, 241, 242, 243, 250, 253, 254, 255, 256
Сандстром У. М. — 325
Серенсен М. — 365
Смит А. Г. — 285
Смит А. Е. — 47
Смит Е. М. — 365
Соболев Н. — 113
Спикман Д. Б. — 317
Спис И. Р. — 100, 173, 248, 319
Сринивазайя М. — 42, 65, 89
Стрейн Г. Г. — 360
Стэнлей У. М. — 110, 135, 179

Т

Татум Е. Л. — 350
Теннис Г. — 166, 210, 242, 271
Теорель Г. — 34, 88, 163, 240, 319
Теруучи Я. — 197
Тизелиус А. — 359
Тиман К. В. — 35, 37
Тойода Г. — 205
Томас Л. Е. — 52, 71, 72, 81, 87, 89, 96
Томас П. — 118, 120, 166
Томияма Т. — 119, 153, 166, 169, 171, 175, 177
Томпсетт С. — 192, 229, 242, 250
Торен С. — 52
Тоттер Д. Р. — 259, 263, 264, 271, 273
Тоун Б. У. — 32, 325, 333, 335, 341
Тристрам Г. Р. — 22, 30, 32, 34, 35, 36, 78, 89, 96, 97, 98, 101, 107, 177, 254, 320
Турба Ф. — 44
Тутийа Я. — 218
Тэйс Е. Р. — 139, 316
Тэчмен Л. Р. — 224, 225

У

Уайт А. — 79, 153, 230
Удуарт Г. Е. — 303, 310, 312, 319
Уилкен-Джордэн Т. — 201, 202
Уилькерсон В. А. — 161, 238
Уильсон Г. — 309
Уильсон Р. Г. — 234, 235, 236, 237, 238
Уинник Т. Д. — 264, 265, 266, 271, 274
Уллей Д. У. — 58, 103, 181, 278, 301, 320, 349, 355, 356
Урбан Ф. Ф. — 87, 162, 239
Урбах К. — 282
Уссинг Г. Г. — 295, 358
Уэбб М. — 71, 73, 87, 106, 107, 109, 135, 146, 148, 150, 162, 225, 228, 239, 258, 270, 271

Ф

Фабини Ф. Р. — 179, 281, 283, 290
Фелпс И. К. — 353
Фелпс М. А. — 353
Фельдес Ф. — 58, 253
Физер — 261
Филлипс Г. — 22, 58
Фирон У. Р. — 63
Фишер Е. — 132, 271, 276, 279, 294, 296, 304, 318, 322, 338, 347, 353
Флеминг Р. — 205
Фляйтман Т. — 188
Фокс С. В. — 323, 324
Фолин О. — 107, 108, 109, 114, 123, 124, 126, 138, 141, 142, 143, 145, 147, 152, 153, 159, 160, 164, 168, 174, 175, 177, 180, 181, 190, 191, 192, 193, 219, 223, 226, 229, 234, 235, 237, 241, 250, 251, 256, 284, 286
Фоллей С. Д. — 40
Фонтэн Т. Д. — 100, 110, 135, 177, 300, 373
Фореман Ф. У. — 297, 304, 305, 306, 318, 335, 347, 354
Форлендер Д. — 266, 267
Фосс К. — 114, 139, 141, 159, 160
Фоссе Р. Л. — 46
Фостер Г. Л. — 317, 319, 333, 358
Франкстон Д. Е. — 122, 138, 164, 167
Фрейберг Р. Г. — 72, 147, 226, 237, 317
Фридеман Т. Е. — 328, 329
Фромажо К. — 269, 281, 283, 287, 295, 297, 300, 316, 329, 330, 332
Фуйвара Г. — 126, 182
Фульмер Г. Л. — 124, 131, 155, 156, 165
Фюджитт К. Г. — 351
Фюрт О. — 50, 65, 68, 84, 86, 87, 89, 92, 105, 112, 118, 119, 120, 138, 141, 142, 143, 144, 152, 160, 161, 164, 174, 329, 333, 334, 335, 336, 339, 346, 347, 349

Х

Ханке М. Т. — 55, 68, 69, 78, 84, 89, 97, 104, 113, 130, 138, 141, 152,

153, 164, 175, 181
Хантер А. — 47, 48, 49, 65, 68, 69, 78, 89, 96, 97, 107
Хантер Г. — 57, 58
Харт Е. — 65, 89
Хийиката — 66, 139, 238, 319, 335
Хироката Р. — 228, 348
Холидэй Е. Р. — 129, 130, 138, 143, 144, 157, 164, 175, 181
Хьюитт Л. Ф. — 143, 148, 223

Ц

Цанд Г. — 188, 221, 229, 242, 250, 253, 257
Циммерман У. — 325, 326
Циттль К. А. — 202, 204, 205, 223
Цуверкалов Д. — 112, 141, 153, 166, 175

Ч

Чибнэл А. К. — 78, 81, 95, 152, 157, 303, 307, 308, 309, 317, 318, 319, 320, 321, 353
Чиокальте В. — 108, 123, 124, 164, 175, 181, 284

Ш

Шарп Д. Г. — 92, 168, 245, 298, 319, 335, 348
Шау Д. Л. Д. — 115, 116, 131, 165, 166, 175
Шаудури Т. К. — 326
Шербюлье Е. — 335, 354
Шигематсу С. — 119, 120, 153, 166, 169, 171, 175, 177
Шильд Е. — 126, 131, 182
Шинн Л. А. — 259, 264, 266, 167, 270, 271
Шинохара К. — 195, 196, 208
Шиттенгельм А. — 139, 333
Шмидт К. Л. А. — 351, 353, 356
Шоберль А. — 193, 194
Шонгеймер Р. — 294
Шрайвер С. Б. — 61, 66, 279, 323, 356
Штаудт У. — 17, 49
Штейдель Г. — 85
Штейн В. Х. — 32, 66, 100, 139, 173, 219, 248, 279, 294, 295, 316, 319, 324, 325, 333, 346, 357
Штейнгарт Д. — 351
Штерн А. — 207, 216, 222, 223, 242, 250
Шультц И. — 229
Шульц Ф. Н. — 188, 189, 221, 222, 223, 224, 231
Шульце Е. — 45, 132, 133

Э

Эванс Г. М. — 82, 158
Эванс Ж. С. — 131
Эверит Е. Л. — 131, 166
Экштайн Г. К. — 82, 83, 158, 161, 233, 238
Элсон Л. А. — 365
Энгеланд Р. — 315, 341, 346, 347, 349, 354
Эндерс К. — 126, 131, 182
Эндрью Ж. К. — 201
Эндрью К. К. — 201
Эриксон Б. Н. — 73, 74, 88, 96, 147, 148, 164, 166, 174, 226, 240, 250
Эрлих Ф. — 278, 356

Ю

Юнг Г. — 85, 161, 238

Я

Янсен Б. К. П. — 46

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Автотропные растения и организмы
— — — содержание в них аланина 336
— — — — аргинина 94, 104
— — — — ароматических аминокислот 172, 182
— — — — аспарагиновой кислоты 319
— — — — гистидина 94, 104
— — — — глинина 336
— — — — глютаминовой кислоты 319
— — — — лизина 94, 104
— — — — оксипролина 348
— — — — пролина 348
— — — — серусодержащих аминокислот 247, 257
Адсорбция 53, 280
— избирательная 43
— хроматографическая 359
Азот, определение 353
Азотная кислота 111
— — реакция с нитрозонафтолом 114
Активированная окись титана, разделение аминокислот 360
Активированные земли 44
Активированный уголь, разделение аминокислот на нем 359
Акула
— содержание аланина и гликоколя 334
— — аргинина, гистидина и лизина 85
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 297
— — оксипролина и пролина 347
Аланин
— в автотропных растениях 336
— — альбуминоидах 333, 367
— — белках животного происхождения 333, 334, 335, 367
— — — металлсодержащих 335
— — — молока 335, 371
Аланин в белках мышц 335
— — — рыб 371
— — — разных 336, 337
— — — растительного происхождения 336, 337, 372 и сл.
— — — тканей 335, 371
— — биологически активных веществах 336
— — вирусах 373
— — глиадине 374
— — глобулинах семян 375
— — глютине 374
— — гормонах и ферментах 369
— — грамицидине 336, 362
— — желатине 333, 362
— — зеине 372
— — кератинах 334, 370
— — крови 333, 367
— — кукурузе 336, 372
— — мозгу 371
— — пшенице 337, 374
— — роге 370
— — ферменте желтом 373
— — фиброине шелка 370
— — шерсти 362, 370
— — эдестине 374
— — эластине 333, 367
— — яичном белке 333, 368
— — выделение 328
— молекулярный вес 322
— определение 328
— — по ацетальдегиду 328
— — методом Блока, Боллинг и Уэбба 330
— — методом Кендаля и Фридемана 328
— — окислением в ацетальдегид нингидрином 331
— оптическая формула 322
— отделение от валина 277
— содержание в нем азота, кислорода и углерода 322
— состав его 333
— точка плавления 322
— эмпирическая форма 322
Аллергены
— содержание в них аргинина 99
— — основных аминокислот 99, 105

Аллергены, содержание ароматических аминокислот 173
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
Алкоголизм, состав белков мозга при нем 149
Альбуминоиды
— содержание в них аланина и глицина 333
— — аминокислот 367
— — ароматических аминокислот 138, 139, 367
— — диаминокислот 65, 66, 367
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 367, 316
— — оксиаминокислот 270, 367
— — оксипролина и пролина 346, 367
— — лейцина, изолейцина и валина 294, 367
— — серы и серусодержащих аминокислот 219, 367
Альбумины зерна, см. «Зерно»
— молока, см. «Молочный альбумин», «Молоко».
— яйца, см. «Яйцо»
Альдегиды, реакция с триптофаном 117—118, 120
Амиловый спирт 40
— — смесь с эфиром 23, 30
Аминный азот 39—40
— — и карбоксильный азот 59
— — определение в негидролизованном белке 61
— — титрование методом Попа и Стивенса 352
Аминокислот эфиры 353
— фосфовольфраматы, влияние температуры на растворимость 38
Аминокислоты, анализ 35
— ароматические, см. «Ароматические аминокислоты»
— в различных веществах, см. «Кровь», «Мозг», «Молоко», «Растительные белки», «Пищевые продукты».
— гидролиз 350, см. также «Гидролиз»
— дикарбоновые, см. «Дикарбоновые аминокислоты»
— незаменимые 376
— образцы, приготовление 350, 351
— окси, см. «Оксиаминокислый», «Серин», «Треонин»
— определение, методы для белковых гидролизатов 366
— — — приближенные 366
— потери при гидролизе 34, 64
Аминокислоты, потребность человека 376
— — — средняя годовая 377
— — — суточная 377, 378
— разделение 353. См. также название отдельных аминокислот
— — гидролизом 350
— — исчерпывающим метилированием 354
— — методом разведения изотопов 358
— — микробиологическим определением 363
— — на активированной окиси титана 360
— — на активированнном угле 359
— — окислением нингидрином 355
— осаждение в виде карбаматов бария 356
— — — ртутных карбаматов 355
— — с ацетатом ртути 355
— определение азота 353
— — полиамино- и поликарбоновых аминокислот при помощи ионных обменивателей 360
— — разделением сухими жирными кислотами 357
— — распределительной хроматографией 361
— — фракционированием медных солей 356
— — фракционированной перегонкой эфиров по Фишеру 353
— — хроматографической адсорбцией 359
— — экспериментальная часть 13
— — экстракция бутиловым спиртом 355
— — электролитическое 43
— растворимость 41
— реакция на углеводы 364
— смесь с углеводами 36
— содержание в альбуминоидах 367
— — — белках животного происхождения 367 и сл.
— — — — пшеницы 374
— — — — растительного происхождения 372 и сл.
— — — — семян 373
— — — — ткани 371
— — — вирусах 372, 373
— — — глобулинах семян 374
— — — гормонах и ферментах 369, 372, 373
— — — дрожжах 372, 373
— — — кератинах 369, 370
— — — крови 367

Аминокислоты, содержание в кукурузе 372
— — — молоке 370
— — — пищевых продуктах и кормах 368, 375
— — — траве, листьях 372, 373
— — — хлебе 374
— — — яичном белке 368, 375
Аммиак 32, 36, 57
— роданилат 342
— рейнекат, осаждение пролина и оксипролина 339
— удаление 29
Аневризм, содержание при нем основных кислот в белках мозга 75
Анилин роданилат 342
Аппаратура для анализа аминокислот в белках 357
Арахин
— содержание в нем аланина и глицина 337
— — аминокислот 374
— — аргинина 50
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — серы и серусодержащих аминокислот 253
Аргиназа 46 и сл.
Аргинин 13, 45, 377
— выделение 19, 23 см. также «Аргинин, разделение и выделение»
— гидролиз 46
— дифлавианат 50, 51, 340
— монофлавианат 51
— окисление до гуанидина 45
— определение прямым методом 45
— — гидролизом до орнитина и мочевины 46
— — — по Боно и Кану 46
— — — — Граффу 47
— — — — — Хэнтеру и Дофинэ 49
— — — — — Хэнтеру и Петтигрю 49
— — диацетильным методом 45
— — — — по Гарден-Норрису 45
— — — — — Лангу 45
— — нафтол-гипохлоритным методом 51
— — — — по Веберу 52, 53
— — — — — Дубнову 53
— — — — — Макферсону 53
— — — — — Сакагучи 49
— оптическая форма 13
— осаждение совместно с гистидином 13, 18, 22, 33
Аргинин, осаждение по Викери и Ливенворсу 18, 19
— — флавиановой кислотой 49, 50
— — по Викери 50
— — — Косселю и Гроссу 49
— разделение и выделение 15, 19, 28, 44
— — — гистидина 19, 44
— — — по Блоку 23
— — — — Викери 19
— — — — Кальвери 22
— — — — Турба 44
— содержание в автотропных организмах 94, 104
— — — альбуминах 368, 372
— — — альбуминоидах 65
— — — аллергенах 100, 105
— — — арахине 50, 374
— — — белках животного происхождения 67, 92, 93, 367, 371
— — — — листьев 97, 372, 373
— — — — металлсодержащих 87
— — — — молока 888 и сл., 370
— — — — печени 87, 371
— — — — плесеней 103
— — — — пшеницы 374
— — — — растительного происхождения 94 и сл., 372 и сл.
— — — — ракообразных 93
— — — — тканей и органов 106, 371
— — — вирусах, 99, 372
— — — волосах 369, 370
— — — глиадине 96, 105, 374
— — — глицинине 374
— — — глобулине хлопкового семени и муке 100, 373
— — — глютине 372, 374
— — — гордеине 101
— — — гормонах 81, 82, 369
— — — дрожжах 103, 372
— — — желатине 50, 66, 367
— — — железах слюнных 106
— — — — смешанных 371
— — — зеине 104, 372
— — — земляном орехе 101, 373, 377
— — — злаках 377
— — — инсулине 369
— — — казеине 50, 90, 91, 370
— — — кератинах 83 и сл., 369
— — — кишечнике 106
— — — коже 83
— — — клещевине 101
— — — коллагене 66
— — — кораллах 85
— — — кормах 368
— — — крови 68 и сл., 367

Аргинин, содержание в кукурузе 372
— — — легких 106
— — — мозгу 75 и сл., 371
— — — — человеческом 75
— — — — обезьяньем 75
— — — мясе и рыбе 377
— — — молочных альбуминах 88 и сл., 370
— — — мочевом пузыре 106
— — — муке 374
— — — — соевой 373
— — — — из льняного семени 373
— — — — нейтрокератинах 83
— — — овсе 102, 373
— — — панкреасе быка 106
— — — пепсине 369
— — — пищевых продуктах и кормах 80, 368
— — — почках 106
— — — пере 369
— — — протаминах 106
— — — рисе 102, 373
— — — роге 369
— — — рыбе 371
— — — мышцах 93
— — — сальнике 50
— — — семенниках быка 106
— — — сердце 106
— — — тимусе быка 106
— — — тироглобулине 369
— — — травах 98, 372
— — — ферментах 81, 82, 372, желтом 372
— — — фиброине шелка 85, 86, 369
— — — шерсти 369
— — — хлебе 374
— — — эдестине 50, 96, 101
— — — эластине 6, 367
— — — яичниках коровы 80, 106
— — — яичной скорлупе 85
— — — хлебе 374
— — — яичном альбумине 78
— состав 362
— флавианат 19, 20, 28, 50, 51
— формула 13
— электродиализ 42, 43
Артериосклероз, содержание основных аминокислот в белках мозга при нем 75
Аспарагиновая кислота, 16, 303, 304, 314, 323, 331. См. также «Дикарбоновые аминокислоты»
— — аналитические результаты 316
— — в альбуминоидах 367
— — — белках животного происхождения 367
Аспарагиновая кислота в белках крови 367
— — — — кукурузы 372
— — — — молока 370
— — — — пшеницы 374
— — — — растительного происхождения 304 и сл.
— — — — тканей 371
— — — глобулинах семян 374
— — — кератинах 369
— — — тироцидине 362
— — — траве, листьях, вирусах, дрожжах 372
— — — яичных белках 368
— — выделение 304
— — — осаждением аспарагината и глютамината кальция водным спиртом 304
— — — методом Риттаузена, видоизмененным Фореманом 305
— — — Риттаузена—Форемана, видоизмененным Джонсом и Меллером 306
— — — перегонкой эфиров 304
— — гидролиз 303
— — молекулярный вес 303
— — определение окислением и бромированием 314
— — — превращением в фумаровую кислоту 315
— — — различными методами 315
— — оптическая форма 303
— — содержание водорода, кислорода, углерода 303
— — точка плавления 303
Ароматические аминокислоты 107, см. также «Дийодотирозин», «Тирозин», «Тироксин», «Триптофан», «Фенилаланин»
— — в автотропных организмах 172, 182
— — — альбуминоидах 138, 139, 367
— — — арахине 374
— — — белках 137 и сл.
— — — — животного происхождения 140
— — — — крови 140 и сл., 367
— — — — листьев 176, 183, 372
— — — — металлсодержащих кроме гемоглобина 163
— — — — мозга животных 150, 371
— — — — человека 149 и сл.
— — — — молока 370
— — — — казеина из коровьего молока 164 и сл. кроме казеина и лактальбумина 167
— — — — мочевого пузыря 184

Ароматические аминокислоты в белках муки из земляного ореха 373
— — — — натурального льняного семени 373
— — — — мышц 168
— — — — рыб 170, 371
— — — — овса и риса 178
— — — — пшеницы 374
— — — — различных растений 177
— — — — растительных 172 и сл.
— — — — смешанных желез 371
— — — — тканей и органов крупного рогатого скота 184
— — — — травы 176, 372
— — — — яичных 368 (кроме альбумина 153)
— — — — биологически активных веществах 172
— — — вирусах 179, 183, 372
— — — волосе 369
— — — глиадине 175, 374
— — — глицинине 374
— — — глобулинах семян 374
— — — глютине 372, 374
— — — гормонах и ферментах 369 (неметаллических 157)
— — — дрожжах 183, 374 и плесенях 180
— — — желатине 367, 138
— — — желудка 184
— — — зеине 181, 183, 374
— — — зернах кукурузы 372 (кроме зеина 173)
— — — инсулине 369
— — — казеине из коровьего молока 164 и сл. кроме 166
— — — кератинах 159, 369
— — — китовом усе 161
— — — кишечнике 184
— — — коже змеи 161
— — — коже и нейрокератинах 161
— — — кораллах 161
— — — кормах и пищевых продуктах 155 и сл., 368
— — — лактоальбуминах 167
— — — легких 184
— — — надпочечниках 184
— — — панкреасе 184
— — — панцыре черепахи 161 и головном наросте пеликана 161
— — — пепсине 369
— — — пере 369
— — — печени 163, 371
— — — почках 184
— — — ракообразных 171
— — — рицине 374
Ароматические аминокислоты в роге 369
— — — семенах 183
— — — селезенке 184
— — — семенах муки 373
— — — семенниках 184
— — — сердце 184
— — — слюнных железах 184
— — — соевой муке 373
— — — спонгине 161
— — — тимусе 184
— — — тироглобулине 369
— — — тканях 184, 371
— — — ферментах 369, 372
— — — фиброине шелка 369
— — — шерсти 369
— — — эдестине 174, 183
— — — эластине 367, коллагенах и аналогичных белках 139
— — — эукератинах 159
— — — яичниках крупного рогатого скота 184
— — — яичном альбумине, кристаллическом 152
— — — яйцевой оболочке, фиброгене шелка 161
— — гидролиз 107
— — молекулярный вес 107
— — оптическая форма 107
— — потребность человека 367 и сл.
— — средняя годовая потребность США 377
— — состав 107
— — содержание азота, иода, кислорода 107
— — эмпирическая формула 107
— — эмпирическая формула 303
Ацетальдегид 289, 290
— получение окислением аланина и нингидрином 331
— определение по его содержанию количества аланина 328
Ацетилацетон 365
Ацетилбензоил 45
Ацетилирование 221
Ацетон 285
— определение 282, 285, 286
— сульфат ртути 285

Б

Бария карбаматы, осаждение аминокислот в виде их 356
— фосфовольфраматы 20
Белки (животного происхождения)
— содержание в них аланина и глицина 333

Белки, содержание аминокислот 367 и сл.
— — ароматических аминокислот 140, 367 и сл.
— — валина 235 сл., 367 и сл.
— — глицина и аланина 333, 334, 367 и сл.
— — гормонов и ферментов см. «Ферменты» и «Гормоны»
— — дикарбоновых аминокислот 316, 317
— — изолейцина 294 и сл., 367 и сл.
— молока, см. также «Лактальбумин»
— — содержание в них аланина и глицина 335
— — — аминокислот 370
— — — ароматических аминокислот в казеине из коровьего молока 162 и сл.
— — — — — в сухом веществе молока 157
— — — — — — в белках кроме казеина и лактальбумина 167
— — — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318, 371
— — — лейцина, изолейцина и валина 297, 298, 370, 371
— — — β-оксиаминокислот 271, 370
— — — оксипролина и пролина 347, 371
— — — основных аминокислот 88 и сл., 370
— — — серусодержащих 240 и сл., 370
— — суточная потребность в них 377 и сл.
Белки (растительного происхождения)
— содержание аминокислот 372
— — ароматических аминокислот 172 и сл.
— — валина 299 и сл., 372 и сл.
— — глицина и аланина 336, 337, 372 и сл.
— — дикарбоновых аминокислот 319 и сл., 372 и сл.
— — изолейцина и лейцина 299 и сл., 372 и сл.
— — β-оксиаминокислот 272 и сл., 372 и сл.
— — основных оксиаминокислот 94 и сл., 372 и сл.
— — пролина и оксипролина 348 и сл., 372 и сл.
— — серусодержащих аминокислот 247 и сл., 372 и сл.
— тканей
Белки тканей, содержание в них аланина и глицина 335
— — — аминокислот 371
— — — ароматических аминокислот 184, 371
— — — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319, 371
— — — лейцина, изолейцина и валина 298, 371
— — — β-оксиаминокислот 272, 371
— — — основных аминокислот 106, 371
— — — серусодержащих 258, 371
Бензойная кислота, получение окислением фенилаланина 133
Бенс-Джонса белки, см. «Кровь»
Бетаин, выделение пролина в виде бетаина 341
Биологические активные вещества
— — — содержание в них аланина и глицина 336
— — — — ароматических аминокислот 172, 182
— — — — глютаминовой и аспарагиновой 319
— — — — β-оксиаминокислот 272
— — — — основных аминокислот 99
— — — — пролина и оксипролина 346, 348
— — — — серы и серусодержащих аминокислот 248, 257
Бобы, среднее годовое потребление и оптимальная суточная потребность человека в них
Ботва брюквы, содержание серусодержащих аминокислот 251
— свеклы, см. «Свекла»
Бром 57
— реакция с гистидином 57
Бромирование 57
— и окисление при определении аспарагиновой кислоты 314
Бутиловый спирт
— — экстракция аминокислот 355
— — — моноамино-монокарбоновых кислот 355
— — — дииодтирозина и тироксина 136
Бык
— содержание глютаминовой и аспарагиновой кислот в мышцах 318
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — оксипролина и пролина 348

В

Вакуумная перегонка 25
Валин
— в альбуминоидах 294, 300
— — белках животного происхождения 294 и сл., 367 и сл.
— — — земляного ореха 301
— — — листьев 300, 373
— — — металлсодержащих 297
— — — мышц 298, 371
— — — пшеницы 301, 374
— — — различных 294
— — — растительного происхождения 299 и сл., 372 и сл.
— — — семян 373
— — — тканей 298, 371
— — волосе 370
— — глютине 372
— — грамицидине 362
— — дрожжах 301, 373
— — желатине 362, 367
— — железах 371
— — зеине 372
— — казеине 371
— — кератинах 370
— — клещевине 375
— — кормах и пищевых продуктах 296, 369
— — крови 294, 367
— — кукурузе 299, 372
— — лактальбумине 298, 371
— — β-лактоглобуине 371
— — мозге 259, 371
— — молоке 297, 371
— — муке льняного семени 373
— — — хлопкового семени 373
— — — соевой 373
— — овсе 373
— — печени 371
— — рисе 373
— — роге 370
— — тироцидине 362
— — хлебе 374
— — шерсти 362, 370
— — эдестине 375
— — эластине 367
— — яйцах 295, 368
— молекулярный вес 275
— определение 276
— — в смесях 283
— — изолейцина и валина диференцированным окислением 281
— — лейцина, изолейцина и валина 283
— — микробиологическим путем 291
Валин, определение микроокислением по Фромажо и Блоку 281
— — окислением нонгидрином 289
— — перегонкой 276
— — — ацетильных производных 279
— — по Фишеру 276
— — хроматографическим методом 280
— оптическая форма 275
— потребность человека, годовая и суточная 377 и сл.
— разделение лейцина и изолейцина от валина 276
— — — изолейцина и валина медными солями 278
— — нафталин - β - сульфокислотой 279
— — от аланина 277
— точка плавления 275
— эмпирическая формула 275
— этерификация 276
Ванилин 119
Ван-Слейка аппарат 41
Вахня, см. «Рыбы»
Веронал 60
Вирусы 272
— содержание аминокислот 372
— — ароматических аминокислот 179, 183, 372
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — основных аминокислот 99, 179, 183, 372
— — серусодержащих аминокислот 254, 372
Вигеллин, содержание аминокислот 79, 153, 230, 270, 295, 317, 334, 347, 368. См. также «Яйца».
Волос, содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 159
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317
— — лейцина, изолейцина и валина 296
— — β-оксиаминокислоты 271
— — основных аминокислот
— — оксипролина и пролина 347
— — серусодержащих аминокислот 239
Высевки
— содержание основных аминокислот 99
— — серусодержащих аминокислот 255

Г

Газометрическое определение цистина и цистеина 207
Гексозамин 364
Гемоглобин см. «Кровь»
Гемоцианин
— содержание аланина и глицина 335
— — ароматических аминокислот 163
— — лейцина, изолейцина и валина 297
— — основных аминокислот 87, 88
— — серусодержащих аминокислот 240
Гемэритрин
— содержание ароматических аминокислот 163
— — основных аминокислот 88
— — серусодержащих аминокислот 240
Гидролиз 14, 350
— и приготовление образцов для анализа 350
— ароматических аминокислот 107
— лейцина 275
— метионина и гомоцистина 211
— методы определения аминокислот в белковых гидролизатах 366
— — — — — β-оксиаминокислотах 259
— определение азота 353
— — аминокислот 185
— — тирозина и триптофана 124
— потери при нем 34 и сл.
— титрование аминоазота по Попу и Стивенсу 352
— треонина 262
Гистидин
— в автотропных организмах 94, 104
— — альбуминоидах 65
— — аллергенах 100, 105
— — арахине 374
— — в белках животного происхождения 92, 367, 371
— — — листьев 97, 105
— — — тканей 371
— — вирусах 99, 105, 372
— — волосе 84, 369, 370
— — глиадине 96, 105, 374
— — глицинине 374
— — глютелине 99
— — глютенине 99
— — глютине 372, 374
Гистидин в гормонах и ферментах 369
— — дрожжах 103, 105, 372
— — желатине 68, 367
— — железах 371
— — зеине 104, 105, 372
— — инсулине 369
— — казеине 88, 370
— — кератинах 369
— — кишечнике 106
— — клещевине 101
— — коллагене 66
— — кормах и пищевых продуктах 362
— — крови 68 и сл., 367
— — кукурузе 95, 104, 372
— — кукурузе 95, 104, 372
— — β-лактоальбумине 91, 370
— — легких 106
— — мозге 75 и сл., 371
— — молоке 88, 91, 370
— — мочевом пузыре 106
— — муке из земляного ореха 373
— — — —льняного семени 373
— — мышцах 371
— — — рыбы 93, 371
— — ногтях 85
— — овсе 102, 105, 373
— — орехе земляном 101
— — панкреасе 106
— — пере 85, 369
— — пепсине 369
— — печени 371
— — плесенях 103
— — почках 106
— — протаминах 106
— — пшенице 98, 105, 374
— — рисе 102, 105, 373
— — роге 84, 85, 369
— — семенах хлопка 100, 105, 373
— — семенах 373
— — семенниках 106
— — сердце 106
— — слюнных железах 106
— — соевых бобах 105, 373
— — тимусе 106
— — тироглобулине 369
— — травах 98, 105, 372
— — ферментах 372
— — фиброине шелка 369
— — хлебе 374
— — шерсти 84, 369
— — эдестине 96, 104
— — эластине 66, 367
— — яйцах 79, 368
— — яичниках 106
— — яичной скорлупе 85
— выделение 14, 19, 26

Гистидин, выделение микрометодом Блока 23
— — методом Викери и Ливенуорса 18
— — — потери в присутствии углеводов 34, 35, 36
— гидролиз 57
— дигидрохлорид 15, 17, 18
— дисульфонат 28
— дифлавианат 18, 19
— молекулярный вес 13
— нитранилат 27
— определение см. «Прямое определение»
— оптическая форма 13
— осаждение 18, 19, 22, 26, 33
— — и аргинина по Косселю 14, 18
— — — — по Викери и Ливенуорсу (1928 г.)
— очистка 87
— потери 34, 35, 36
— прямое определение 54
— — — диазореакцией 54
— — — методом диазореакции, видоизмененным Джорджем 56
— — — — Паули — Вейсса 56
— — — реакцией с бромом, проба Кнопа 57
— — — — Капеллера — Адлера, разработка 57
— — — — Плиммера и Филлипса, видоизменение 58
— разделение и выделение 14, 22, 33
— — — аргинина 19
— — — методом Викери и Ливенуорса, видоизменение метода Косселя 18
— — — — Колвера, видоизменение метода Косселя 22
— — — — Турба 44
— — — — Муро и Гоффера 33
— — — от моноаминокислот 44
— — — электролитическое 42
— растворимость 41
— серебряные осадки 15 и сл.
— содержание азота, водорода и кислорода 13
— состав 13
— формула 13
— фосфовольфрамат 55
— фракции 21
— электродиализ 42
Глиадин
— содержание аланина и глицина 337
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 321
Глиадин, содержание лейцина, изолейцина и валина 301
— — оксиаминокислот 274
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 96, 105
— — серусодержащих аминокислот 250
Глиоксиловая кислота
— — метод определения триптофана 115
— — реакция 115, 121
Глицин
— аналитические данные 332
— в автотропных растениях 336
— — альбуминоидах 333, 367
— — арахине 375
— — белках животного происхождения 333 и сл., 367 и сл.
— — — металлсодержащих 335
— — — пшеницы 337, 374
— — — тканей 335, 371
— — вирусах 373
— — волосе 370
— — глиадине 337
— — глютенине 337
— — глютине 337
— — грамицидине 336, 362
— — желатине 367
— — зеине 372
— — кератинах 334, 370
— — крови 333, 367
— — кукурузе 336, 372
— — молоке 335, 370
— — муке из хлопкового семени 373
— — — земляного ореха 373
— — мышцах 335, 371
— — печени 371
— — растениях 336, 337, 372 и сл.
— — роге 370
— — семенах, глобулинах и белках 373
— — травах, листьях, вирусах, дрожжах 372
— — фиброине шелка 334
— — шерсти 370
— — эдесине 375
— — эластине 367
— — яйцах 333, 368
— выделение 322
— — в виде карбата 323
— — триоксалатохромиата 323, 324
— — методом фракционирования эфиров 322
— молекулярный вес 322
— определение 325
— — колориметрическое 325

Глицин, определение методом Клейна и Линзера, видоизменение метода Циммермана 326
— — — Паттона, видоизменение метода Циммермана — Клейна 327
— — — Циммермана, реакция с ортофталевым диальдегидом 325
— — разными методами 328
— оптическая форма 322
— осадитель 32
— потребность человека 377 и сл.
— содержание азота, водорода, кислорода, углерода 322
— точка плавления 322
— эмпирическая формула 322
Глицинин
— содержание аланина и глицина 337
— — аминокислот 374
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320
— — серусодержащих аминокислот 253
Глобин см. «Кровь»
Глобулин кокосового ореха
— — — содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот 320
— — — — — пролина и оксипролина 349
Глютаминовая кислота 303, 309, см. также «Дикарбоновые аминокислоты»
— — аналитические результаты 316
— — в автотропных растениях 319
— — — альбуминоидах 367
— — — белках животного происхождения 367 и сл.
— — — — — кукурузы 320, 372
— — — — — листьев 372
— — — — — пшеницы 320, 374
— — — — — различных 320
— — — — — тканей 371
— — — биологически активных веществах 320
— — — кератинах 370
— — — крови 367
— — — молоке 371
— — — растениях 372 и сл.
— — — тироцидине 362
— — выделение 304
— — гидролиз 303
— — молекулярный вес 303
— — определение окислением в янтарную кислоту 310
— — — методом Аримо и Аэна 313
Глютаминовая кислота, определение методом Коэна и Крэбса, микрометод 310
— — — — Опсэла и Арноу 309
— — — — Удуарта, Рэйнгарта и Доэна 312
— — — превращением в пирролидонкарбоновую кислоту 309
— — оптическая форма 303
— — осаждение аспарагината и глютамината кальция водным спиртом 304
— — — методом Джонса и Меллера, видоизменение методом Ритгаузена — Форсмана 306
— — — — Форсмана, видоизменение метода Ритгаузена 305
— — — — Чибнэла, видоизменение метода Ритгаузена—Форсмана 307
— — перегонка эфиров 305
— — содержание азота, водорода, кислорода, углерода 303
— — точка плавления 303
— — эмпирическая формула 303
Глютаминовой кислоты гидрохлорид 305 и сл., 308
Глютелин
— содержание ароматических аминокислот 173, 180
— — основных аминокислот 99
— — серы и серусодержащих аминокислот 249, 255
Глютенин
— содержание аланина 337
— — ароматических аминокислот 180
— — глицина 337
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 321
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 99
— — серы и серусодержащих аминокислот 255
Глютин
— содержание аланина и глицина 337
— — аминокислот в % 372, 374
— — ароматических аминокислот 173, 372
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 374
— — лейцина, изолейцина и валина 299, 301, 374
— — — — — в глютиновой муке 299

Глютин, содержание β-оксиаминокислот 273, 274, 374
— — оксипролина и пролина 349, 374
— — основных аминокислот 99, 374
— — серусодержащих—249, 255, 374
Гомоцистеин 212, 213
Гомоцистин 211
— определение, метод Барнштейна 211
Гонадотропин
— содержание ароматических аминокислот 158
— — основных аминокислот 82
Гопкинса — Коле реакция 17, 114
Гопкинса реактив 24, 114
«Gorgonia»
— содержание ароматических аминокислот 161
— — основных аминокислот 86
— — серусодержащих аминокислот 238
Гордеин
— содержание аланина и глицина 337
— — ароматических аминокислот 177
— — глюталиновой и аспарагиновой 320
— — лейцина, изолейцина и валина 300
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 101
— — серусодержащих 254
Гормоны
— содержание аминокислот 369
— — ароматических 157, 369
— — глюталиновой и аспарагиновой кислот 317, 369
— — β-оксиаминокислот 369, 370
— — основных аминокислот 81, 369
— — серусодержащих аминокислот 232, 369
Гормон гипофиза
— — лактогенный 158
— — окситоксический 158
— — прессорный 258
— — содержание аргинина 82, 83
— — — ароматических аминокислот 158, 159
— — — гистидина 82, 83
— — — лизина 82, 83
— — — основных аминокислот 82
— — — серусодержащих аминокислот 233
Гравиметрический метод Бича для определения метионина и гомоцистина 215
Грамицидин
— содержание аланина 362
— — ароматических аминокислот 172
— — валина 300, 362
— — глицина 336
— — изолейцина 300, 362
— — лейцина 300, 362
— — оксипролина и пролина 348
— — триптофана 362
Гуанидин, окисление аргинина до гуанидина 45
Губки
— содержание ароматических аминокислот 162
— — основных аминокислот 86
Гулевича поправки для растворимости серебряной соли аргинина 18, 32
Гуминов азот, 40
— — удаление 14, 22

Д

Диабет, содержание аминокислот в белках мозга 75, 149
Деметилирование 211
Дениже реактив 24, 27, 114
Диазобензолсульфоновая кислота 55
Диазореакция 17
— для гистидина 54
— — тирозина 113, 130
Диазотирование сульфаниловой кислоты 54, 55
Диацетильная реакция 45, 63
Дибромщавелевоуксусная кислота 314
Дииодтирозин 107, 158, см. также «Ароматические аминокислоты»
— определение, химические методы 136
— — реакцией Миллон — Нассе, видоизмененная Лаггом 137
Дикарбоновые аминокислоты 303 см. также «Аспарагиновая кислота», «Глютаминовая кислота»
— — в альбуминоидах 316, 367
— — — арахине 374
— — — белках животного происхождения 316 и сл., 367 и сл.
— — — — яичных 317, 368
— — — вирусах 372
— — — волосе 369
— — — глиадине 374
— — — глицинине 374
— — — глютине 372, 374
— — — гормонах 317, 369
— — — желатине 367

Дикарбоновые аминокислоты в зеине 372
— — — казеине 370
— — — кератинах 317
— — — крови 317, 367
— — — кукурузе 372
— — — лактальбумине 370
— — — β-лактоглобулине 370
— — — молоке 318, 370
— — — мышцах 318, 371
— — — — рыб 371
— — — пшенице 374
— — — растениях 319, 372 и сл.
— — — рицине 374
— — — роге 369
— — — семенах 374
— — — тканях 319, 371
— — — ферментах 317, 363
— — — либроине шелка 363
— — — шерсти 369
— — — эдестине 374
— — гидролиз и удаление 289
Диксантгидрилмочевина 46, 47
п-Диметиламинобензальдегид 118 и сл., 343, 365
5.5-диметилдигидрорезорцин 216
Диметил-*п*-фенилендиамин 205, 209
Динитрофенилаланин 133
Динитрофенилгидразин 314
1-8-Диокси-3,5,-дисульфонафталин 267
Диоксифенилаланин 136
3-2-Дихлорбензолсульфоновая кислота 27
Дрожжи 372

Ж

Желатина
— содержание аланина 362
— — глицина 333
— — аминокислот 362, 367
— — аргинина 50, 65, 367
— — ароматических аминокислот 138, 139, 367
— — гистидина 65
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 316
— — изолейцина 362, 367
— — лейцина 362, 367
— — изолейцина и валина 234, 367
— — лизина 65, 367
— — метионина 362, 367
— — β-оксиаминокислот 270, 367
— — оксипролина и пролина 367, 446
— — основных аминокислот 65, 367
— — серусодержащих аминокислот 219, 367
Желатина, содержание фенилаланина 362, 367
Железы
— содержание аминокислот 371
— — лейцина, изолейцина и валина 298
Желудок
— содержание ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Животный и древесный уголь 324
— — — — обесцвечивание аминокислот 26
Жирные кислоты, разделение амичокислот ими 357

З

Закупорка коронарной артерии, содержание основных аминокислот в белках мозга при ней 75
Зеин
— содержание аланина и глицина в зеиновом остатке 336
— — аминокислот 372
— — ароматических аминокислот 181, 183, 372
— — в зеиновом остатке 174
— — глютаминовой и аспарагиновой кислотах 320, 372
— — лейцин, изолейцин и валин 299, 372
— — β-оксиаминокислот 273, 372
— — оксипролина и пролина 349, 372
— — основных аминокислот 104, 105, 372
— — серусодержащих аминокислот 256, 372
— — в зеиновом остатке 249
Земляной орех
— — содержание аланина и глицина в муке 337
— — — аминокислот 373
— — — ароматических аминокислот 177
— — — лейцина, изолейцина и валина 301
— — — β-оксиаминокислот 232, 253, 273
— — — основных аминокислот 101
— — — серусодержащих аминокислот 257
Злаки

Злаки, содержание аминокислот 375
— — ароматических аминокислот 155 и сл., 178
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — оксиаминокислот 273
— — основных аминокислот 80
— — серусодержащих аминокислот 231
— среднее годовое потребление 377

И

Иглы (дикобраза, ехидны, игуана)
— содержание ароматических аминокислот 160
— — основных аминокислот 85
— — серусодержащих аминокислот 237
Идиотизм амавротический, содержание аминокислот в белках мозга 149
Изатин в колориметрическом определении оксипролина 343
Изобутилальдегид 290
Изолейцин
— в альбуминоидах 294, 367
— — белках животного происхождения 294 и сл., 367 и сл.
— — — земляного ореха 301
— — — листьев 300, 373
— — — металлсодержащих 297
— — — мышц 298, 371
— — — пшеницы 301, 374
— — — различных 294
— — — растительного происхождения 299 и сл., 372 и сл.
— — — семян 373
— — — тканей 298, 371
— — волосе 370
— — глютине 372
— — грамицидине 362
— — дрожжах 301, 373
— — желатине 362, 367
— — железах 371
— — зеине 372
— — казеине 371
— — кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 296, 369
— — крови 294, 367
— — кукурузе 299, 372
— — лактальбумине 298, 371
— — β-лактоглобулине 371
— — мозге 295, 371
— — молоке 297, 371
Изолейцин в муке льняного семени 373
— — — соевой 373
— — — хлопковой 373
— — овсе 373
— — печени 371
— — рисе 377
— — рицине 375
— — роге 370
— — тироцидине 362
— — хлебе 374
— — шерсти 362, 370
— — эдестине 375
— — эластине 367
— — яйцах 295, 368
— молекулярный вес 275
— определение 287
— — микробиологическое 291
— — микрометодами окисления Фромажо и Блока 281
— — диференцированным окислением 283
— — окислением нингидрином 289
— — посредством суммы лейцинов 289
— перегонка 276
— — по принципу противотока 279
— фракционирование ацетильных производных 279
— хроматографический метод Мартина и Сайнджа 280
— фракционирование эфиров по Фишеру 276
— этерификация 276
— оптическая форма 275
— отделение лейцина от изолейцина и валина посредством медных солей 278
— — от валина 276
— — посредством нафталин-сульфокислоты 279
— потребность человека годовая и суточная 377 и сл.
— содержание азота, водорода, кислорода, углерода 275
— точка плавления 275
— эмпирическая формула 275
Изотопное разделение 358
Изоэлектрическое осаждение тирозина 111
Инсулин, гидролиз 186
— содержание аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 157, 158, 369
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 369
— — β-оксиаминокислот 270, 369
— — основных аминокислот, 81, 369

Инсулин, содержание серусодержащих аминокислот 232, 369
Инфекция, содержание аминокислот в белках мозга 149
Иод 197, 217
— определение цистина титрованием иодом 187
Иодацетатная реакция 209
Иодобензоат 210
Иодбензойная кислота, метод определения цистеина 270
Иодиды, летучие, метод определения метильных групп 211, 212, 213
Иодометрическое титрование метионина 217
Ионные обмениватели, разделение полиаминокислот и поликарбоновых аминокислот 360

К

Казеин
— содержание аланина и глицина 335
— — аминокислот 370
— — ароматических аминокислот (кроме казеина молока) 166, 167, 370
— коровьего молока, содержание ароматических аминокислот 165, 166, 167
содержание глютаминовой и аспарагиновой кислот 318, 371
— — лейцина, изолейцина и валина 297, 370, 371
— — β-оксиаминокислот 271, 370
— — оксипролина и пролина 347, 371
— — основных аминокислот 88 и сл., 91, 370
— — серусодержащих аминокислот 240 и сл., 370
Кальций аспарагинат и глютаминат, осаждение водным спиртом 304
Каолин 45
Карбазол, реакция Дише 364
Карбаматный метод выделения оксилизина по Шрайверу 61
Карбаматы 355, 356
Карбамиды аминокислот, фракционирование 202, 356, см. также «Уголь»
Кафирин, содержание лейцина, изолейцина и валина 300
Каучук
— содержание глюталеиновой и аспарагиновой кислот в латексе 320
Каучук, содержание основных аминокислот 101
— — серусодержащих аминокислот 254
Кератины
— содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 159 и сл., 370
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 370
— — лейцина, изолейцина и валина 296, 370
— — оксипролина и пролина 347, 370
— — основных аминокислот 83 и сл., 369
— — серусодержащих аминокислот 234 и сл., 370
Китовый ус
— — содержание ароматических аминокислот 161
— — — серусодержащих аминокислот 238
Кишечник
— содержание ароматических аминокислот 184
— — оксиаминокислот 272
— — основных — 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Клевер
— содержание ароматических аминокислот 176
— — основных аминокислот 97
— — серусодержащих аминокислот 251
Клещевина (бобы)
— содержание ароматических аминокислот 177
— — β-оксиаминокислот 273
— — основных аминокислот 101
Кнопа проба 57
Коагуляция 159, 183, 353
Кожа
— содержание аланина и глицина 334
— — ароматических аминокислот 161
— — основных аминокислот 83
— — серусодержащих аминокислот 238, 237
Коллаген
— содержание аланина и глицина 333
— — ароматических аминокислот 139
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 316

Коллаген, содержание лейцина, изолейцина и валина 294
— — β-оксиаминокислот 270
— — оксипролина и пролина 346
— — основных аминокислот 66
Коллоидальная сера 209
Колориметрическое определение
— — глицина 325
— — метионина и гомоцистина 216
— — пролина 345
— — — и оксипролина 343
— — триптофана 121
Кональбумин, содержание аминокислот 79, 153, 230
Конарахин, содержание серы и серусодержащих аминокислот 253
Копыта
— содержание β-оксиаминокислот 271
— — лейцина, изолейцина и валина 296
Корма
— содержание аминокислот 358
— — ароматических аминокислот 155, 359
— — лейцина, изолейцина и валина 296, 359
— — оксиаминокислот 270, 359
— — основных аминокислот 80, 358
— — серы и серусодержащих аминокислот 231, 359
Косселя — Блока метод, поправки к нему 35
Кристаллизация для отделения аминокислот 276
Кровь
— содержание аланина и глицина 333
— — аминокислот 367
— — — в белках Бенс Джонса 74, 148, 226, 295, 317, 333, 367
— — — — гемоглобинах 68, 74, 142, 148, 221, 227, 270, 294, 295, 317, 333, 346, 367
— — — — глобинах 69, 74, 142, 148, 222, 227, 270, 295, 346
— — — — клетках 73
— — — — кровяной муке 81, 367
— — — — плазме 72
— — — — сыворотке 69, 70, 72, 73, 74, 78, 143, 144, 146, 147, 148, 223, 224, 226, 227, 234, 270, 295, 317, 346, 367
— — — — фибрине 68, 74, 140, 148, 221, 270, 295, 317, 333, 367
— — — — аргинине 73
Кровь, содержание ароматических аминокислот 140 и сл., 367
— — — — в патологической сыворотке человека и белках мочи 147
— — — — — патологических условиях 148
— — валина 294, 367
— — гистидина 72, 73
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 367
— — дикарбоновых аминокислот в сероглобулине 317, 367
— — изолейцине 234, 367
— — лейцина 294, 367
— — лизина 68, 367
— — β-оксиаминокислот 270
— — оксипролина и пролина 346, 367
— — основных аминокислот 68, 72, 81 и сл., 367
— — серы и серусодержащих аминокислот 221 и сл., 367
Кролик
— содержание ароматических аминокислот в мышцах 168
— — лейцина, изолейцина и валина в миозине 298
— — основных аминокислот 77, 92
— — серусодержащих аминокислот 245
Кораллы (Plexaurella)
— содержание ароматических аминокислот 161
— — основных аминокислот 86
Крупный рогатый скот
— — — содержание аланина и глицина в белках 334
— — — — ароматических аминокислот 168, 184
— — — — β-оксиаминокислот в мозге 270
— — — — основных аминокислот 77
— — — — в мышцах 92
— — — — серусодержащих аминокислот 244
Крыса
— содержание ароматических аминокислот 140, 168
— — основных аминокислот 67, 77, 92
— — серусодержащих аминокислот 245
Ксантидрол 46, 47
Кукуруза см. также «Глютин», «Глюбелин», «Глютенин», «Зеин»

Кукуруза, содержание аланина и глицина 337
— — аминокислот 372
— — — в целом зерне 372
— — ароматических аминокислот 173, 174, 182, 372, 373
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 372
— — лейцина, изолейцина и валина 299, 372
— — β-оксиаминокислот 272, 372
— — оксипролина и пролина 349, 372
— — основных аминокислот 95, 97, 105, 372
— — серы и серусодержащих аминокислот 248, 249, 257, 372
— суточная потребность 378

Л

Лагга сернокислая и хлорная ртуть 128
Лактальбумин
— содержание аланина и глицина 335
— — аминокислот 370
— — ароматических аминокислот 167
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — β-оксиаминокислот 271
— — оксипролина и пролина 348
— — основных аминокислот 90, 91
— — серусодержащих аминокислот 242
— состав полной питательной среды 291, 363
— — твердых сред 293
Лактоглобулин
— содержание аминокислот 370
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — β-оксиаминокислот 271
— — основных аминокислот 91
— — серусодержащих аминокислот 247
Легкие
— содержание ароматических аминокислот 184
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
Легкие, содержание серусодержащих аминокислот 258
Легумелин, содержание лейцина, изолейцина и валина 300
Лейкозин, содержание глютаминовой и аспарагиновой кислот 321
Лейцин
— в альбуминоидах 294, 367
— — белках животного происхождения 294 и сл., 367 и сл.
— — — земляного ореха 301
— — — листьев 300, 373
— — — металлсодержащих 297
— — — молока 297, 370
— — — мышц 298, 371
— — — пшеницы 301, 374
— — — различных 294
— — — растительного происхождения 299 и сл., 372 и сл.
— — — семян 373
— в волосе 370
— — глютине 372
— — грамицидине 362
— — желатине 362, 367
— — железах 371
— — зеине 372
— — казеине 370
— — кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 296, 369
— — крови 234, 367
— — кукурузе 299, 372
— — лактальбумине 298, 370
— — β-лактоглобулине 370
— — мозге 295, 371
— — муке льняного семени 373
— — — соевой 373
— — — хлопкового семени 373
— — овсе и пшенице 373, 375
— — печени 371
— — рисе 373
— — рицине 375
— — роге 370
— — тироцидине 362
— — хлебе 374
— — шерсти 362, 370
— — эдестине 375
— — эластине 367
— — яйцах 295, 368
— молекулярный вес 275
— определение в отсутствии валина 282
— — в смеси 283
— — микробиологическое 291
— — микрометодом окисления Фромажо и Блока 281

Лейцин, определение диференцированным окислением хромовой кислотой по Фромажо, Гейцу и Мургу 281
— — диференцированным окислением 283
— — окислением нингидрином 289
— — суммы компонентов 289
— — в чистом растворе 289
— — перегонкой 276
— — фракционированием ацетильных производных 279, 280
— — вишеровским методом 276
— оптическая форма 275
— потребность человека годовая и суточная 377 и сл.
— разделение кристаллизацией 276
— — от валина 276
— — — изолейцина и валина при помощи медных солей 278
— — видоизмененным Бразье методом медных солей 278
— — нафталин - β - сульфокислотой 279
— — прямым осаждением нафталин-β-сульфокислотой 279
— — перегонкой 276
— — этерификацией 276
— содержание азота, водорода, кислорода, углерода 275
— точка плавления 275
— эмпирическая формула 275
Ливитин, содержание аминокислот 79, 153, 230, 295, 334, 347, 368
Лизин
— в автотропных организмах 94, 104
— — альбуминоидах 65
— — аллергенах 100, 105
— — арахине 374
— — белках животного происхождения 92, 367, 371
— — — листьев 97, 372, 373
— — — металлсодержащих 87, 88
— — — молока 88 и сл., 370
— — — печени 87, 371
— — — плесеней 103
— — — пшеницы 374, кроме глиадина 98
— — — растительного происхождения 94 и сл.
— — — тканей 106, 371
— — вирусах 372
— — волосе 84, 369, 370
— — глиадине 96, 105, 374
— — глицинине 374
— — глютине 372, 374
— — гормонах 369
Лизин в дрожжах 103, 105, 372
— — желатине 66, 367
— — железах смешанных 371
— — — слюнных 106
— — зеине 104, 372
— — земляном орехе 101, 373
— — инсулине 369
— — казеине 91, 370
— — кератинах 369
— — клещевине бобов 101
— — коже 83
— — коллагене 66
— — кормах и пищевых продуктах 368
— — крови 68 и сл., 367
— — кукурузе 95, 104, 372
— — легких 106
— — мозге 75 и сл., 371
— — мочевом пузыре 106
— — ногтях 85
— — овсе 102, 373
— — панкреасе 106
— — пепсине 309
— — пере 85, 369
— — почках 101
— — проталинах 106
— — пшенице 98, 105, 374
— — рисе 102, 105, 373
— — рицине 101, 374
— — роге 84, 85, 369
— — рыбе 93, 371
— — семенниках 106
— — сердце 106
— — тимусе 106
— — тироглобулине 369
— — травах 98, 372
— — ферментах 372
— — фиброине шелка 369
— — шерсти 369
— — эдестине 96, 104
— — эластине 66, 307
— — яичниках 106
— — яичной скорлупе 85
— выделение 15, 20, 23, 34, 35
— — по Колвери 23
— — нитронилата 31
— — пикрата 20, 30
— молекулярный вес 13
— оптическая форма 13
— осаждение 29
— отделение и выделение 15
— — — Викери и Ливенуорса, видоизменение метода Косселя 20, 21
— — от аргинина 44
— — методом Турба 44
— — — электрическим 42
— состав 13

Лизин, прямое определение 212
— — — нингидронной реакцией; методом Ван-Слейка, Диллона, Мак-Фэдьина и Гамильтона 59
— — — Руэмана — Ван-Слейка 59
— — — разложением свободных аминогрупп (Ван-Слейк — Либен) 60
— — аминного азота в негидролизованном белке 61
— растворимость 32, 35, 41
— сернокислая вытяжка 30
— фосфовольфрамат 23
— формула 13
— электродиализ 42
Листья
— содержание аминокислот 372
— — ароматических аминокислот 176, 372
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 373
— — лейцина, изолейцина и валина 300, 373
— — β-оксиаминокислот 273, 373
— — основных аминокислот 97, 105, 372
— — серусодержащих — 251, 373
Ллойда реагент 44
Льняное семя
— — содержание аминокислот в муке 373
— — — ароматических аминокислот 177
— — — лейцина, изолейцина и валина в муке 300
— — — β-оксиаминокислот 274
— — — основных аминокислот 80, 101
— — — серусодержащих 231, 253
Липопротеины, содержание основных аминокислот 100
Лупин
— содержание ароматических аминокислот, 155, 178
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320
— — лейцина, изолейцина и валина 300
— — β-оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 80
Люцерна
— содержание ароматических кислот 176
— — основных аминокислот 80, 97
— — β-оксикислот 273
— — лейцина, изолейцина и валина 300
Люцерна, содержание серусодержащих аминокислот 232, 251, 252

М

Медь, аспарагинат 305, 306
— очистка 244
— соли, выделение цистина 201
— — в отделении лейцина от изолейцина и валина 278
— — фракционирование для разделения аминокислот 356
Медь, закисная 202, 204, 308
— осаждение цистеина в виде меркаптида закиси меди 203
— полухлористая 201
— — меланоидином 126
Метилирование исчерпывающее в разделении аминокислот 354
Метильные группы в белке, определение
— — — иодида 211
— — — сульфида, метонина 218
Метионин 185, 211. См. также «Серусодержащие аминокислоты»
— в альбуминоидах 367
— — белках животного происхождения 367 и сл.
— — — растительного происхождения 372 и сл.
— — — тканей 371
— — глобулинах семян 375
— — желатине 362
— — кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 369
— — крови 367
— — кукурузе 372
— — молоке 370
— — пшенице 374
— — травах, листьях, вирусах и дрожжах 373
— — хлебе 374
— — шерсти 362
— гидролиз 185, 187
— метод определения 211
— — — Барнштейна 211, 212
— — — иодометрическое титрование 217
— — — по гомоцистеину 212
— — — гравиметрический Бича 215
— — — полярографический Штерна и Бича 216
— — — прямой колориметрический 216

Метионин, метод определения Тутийа 218
— оптическая форма 185
— содержание азота, водорода, кислорода, серы, углерода 185
— точка плавления 185
— эмпирическая формула 185
Микробиологическое определение аминокислот 303
— — лейцина, изолейцина и валина 291
Микродиффузионные чашечки Конвея 265
Микрометрический метод Шинна 265
Микроокисление в разделении лейцинов 281
Миллон 130
— реактив 112
Миллон — Нассе реакция 123
Миоген, содержание ароматических аминокислот 168
— — β-оксиаминокислот 272
Миозин, содержание аланина и глицина 335
— — ароматических аминокислот в кролике 168
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — β-оксиаминокислот 272
— — оксипролина и пролина 348
Миэлома, содержание аргинина, гистидина и лизина 72
Мозг
— содержание аланина и глицина 335
— — аминокислот 371
— — ароматических аминокислот 149, 150
— — лейцина, изолейцина и валина 295
— — β-оксиаминокислот 270
— — основных аминокислот 75, 77
— — серусодержащих аминокислот 228
Мозговое кровоизлияние, содержание аминокислот в белках мозга 1, 49, 75
Моллюск двустворчатый, содержание основных аминокислот 93
Молочная кислота 330
Молочные продукты, среднее годовое потребление 377
Моноаминокислоты, разделение 44
Монокарбоновые кислоты, экстракция бутанолом 355
Морская свинка
— — содержание основных аминокислот 67
— — — — — — в мозге 77
Морские водоросли, содержание оксипролина и пролина 348
Моча
— содержание ароматических аминокислот 147
— — основных — 72
— — серусодержащих аминокислот 226
Мочевая кислота 180
Мочевина, гидролиз аргинина до орнитина и мочевины 46
Мочевой пузырь
— — содержание ароматических аминокислот 184
— — — β-оксиаминокислот в мышцах 272
— — — основных аминокислот 106
— — — серы и серусодержащих аминокислот 258
Мука белая, суточная потребность 377, 378
— обогащенная 376 и сл.
— содержание аминокислот 374
— — ароматических аминокислот 155
— — β-оксиаминокислот 273
— — основных аминокислот 80
Мука из льняного семени
— — — содержание аминокислот 373
— — — — ароматических аминокислот 177
— — — — лейцина, изолейцина, валина 300
— — — — β-оксиаминокислот 274
— — — — основных аминокислот 80
— — — — серы и серусодержащих аминокислот 231, 253
Мышцы
— содержание аланина и глицина 335
— — аминокислот 371
— — ароматических аминокислот 168 и сл., 371
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — оксиаминокислот 272, 371
— — оксипролина и пролина 348
— — основных аминокислот 93, 371
— — серусодержащих аминокислот 244 и сл.

Н

Надпочечники
— содержание ароматических аминокислот 184
— серы и серусодержащих 258
— реакция 121
Натрия
— амальгама, восстановление 203
— гипохлорит, в колориметрическом определении оксипролина 343
— нитропруссид 208, 216, 330
Нафталин-β-сульфокислота в разделении лейцина от валина и изолейцина 279
1,2-нафтахинон-4-сульфонат, натриевая соль 199
(1-нафтил)-этилендиамин 122
α-Нафтол 52
— гипохлорит 51
β-Нафтол 199
Нефроз, содержание основных аминокислот 72
Нейрокератины
— содержание ароматических аминокислот
— — основных аминокислот 83 и сл.
— — серусодержащих аминокислот 238
Нейроспора 350
Нингидрин 289
— окисление аланина 331
— — в разделении аминокислот 355
— реакция в прямом определении лизина 59
Нитранилат, выделение глицина 325
Нитраниливовая кислота 23, 32, 325
Нитрит — молибдат 136
Нитрозонафтол, реакция в азотной кислоте 114
Нитропруссидная проба 17, 21
— — реакция 208
Ногти
— содержание основных аминокислот 85
— — серусодержащих аминокислот 237
Норит, обесцвечивание 50

О

Овес
— содержание аминокислот 373
— — ароматических аминокислот 178
Овес, содержание β-оксиаминокислот 274, 373
— — основных аминокислот 102, 105, 373
— — серусодержащих аминокислот 254, 373
Овомукоид 154, 230
Овца, содержание основных аминокислот в белках мозга 76
Окисление
— и бромирование в определении аспарагиновой кислоты 314
— диференцированное
— — при определении лейцина, изолейцина и валина 283
— — — — лейцина и валина по Бромажо, Гейцу и Мирчу 281
— микро при отделении лейцина 281
— нингидрином 355
— оксипролина перекисью водорода 344
— периодатом при определении оксилизина 62
— парманганатом 285, 286
— по Аримо и Лэн 313
— прямое, цистеина в сульфат 210
— в формальдегид специфическими окислителями 266
— хроматами при определении лейцина и валина 282, 286
β-Оксиаминокислоты 260, 269 см. также «Серин», «Треонин»
— в альбуминоидах 270, 367
— — арахине 375
— — белках животного происхождения 270 и сл., 367 и сл.
— — — листьев 273, 373
— — — молока 271, 370
— — — мышц 272, 371
— — — печени 271, 371
— — — пшеницы 274, 374
— — — растений 272, 273, 372 и сл.
— — — семян 375
— — — тканей 272, 371
— — — яиц 270, 368
— — биологически активных белках 272
— — вирусах 372
— — волосах 370
— — глиадине 374
— — глютине 372, 374
— — гормонах 270, 369
— — дрожжах 372
— — желатине 367
— — железах 371
— — зеине 372
— — инсулине 369

β-Оксиаминокислоты в кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 270, 273, 369
— — крови 270, 367
— — кукурузе 272, 273, 372
— — мозге 270, 371
— — муке земляного ореха 373
— — — льняного семени 373
— — — хлопкового 373
— — овсе 373
— — пепсине 369
— — псевдокератинах 271
— — рисе 373
— — соевых бобах 373
— — тироглобулине 369
— — ферментах 369, 372
— — фиброине шелка 370
— — эластине 270, 367
Оксилизин 13, 61, см. также «Основные аминокислоты»
— молекулярный вес 13
— определение окислением периодатом 62
— — методом Шрайвера 61
— оптическая форма 13
— состав 13
— формула 13
— электрометрическое разделение 43
Оксипролин
— аналитические результаты 345
— в автотропных организмах 318
— — альбуминоидах 346, 367
— — в белках животного происхождения 346 и сл., 367 и сл.
— — — пшеницы 349
— — — растительного происхождения 348 и сл., 372 и сл.
— — биологически активных веществах 346, 348
— — глобулинах семян 374
— — желатине 367
— — зеине 372
— — кератинах 347
— — крови 346, 367
— — кукурузе 349, 372
— — молоке 347, 370
— — мышцах 348
— — рицине 375
— — ферменте, шелком 373
— — эластине 367
— — яйцах 346, 347
— выделение 338
— — методом Дэкина 339
— — колориметрическим определением 343
— — окислением перекисью водорода 344
Оксипролин, выделение осаждением рейнекатом аммония 339
— — прямой экстракцией растворителем 338
— — фишеровским методом фракционирования эфиров 338
— молекулярный вес 338
— определение колориметрическое 343
— — с изатином 344
— оптическая форма 338
— содержание азота, водорода, кислорода, углерода 338
— точка плавления 338
— эмпирическая формула 338
Оксиглутаровая кислота 313
β-Оксиглютаминовая кислота 303
n-Оксидифенил 265
— метод определения треонина 265
Опухоли
— содержание аспарагиновой и глютаминовой кислот 319
— — серусодержащих аминокислот 233
Органы крупного рогатого скота
— — — — содержание в них ароматических кислот 184
Орнитин
— выделение из гирацидина 363
— гидролиз аргинина в орнитин и мочу 46
Основные аминокислоты 13, 64, см. также «Афиенген», «Гистидин», «Диаминокислоты», «Лизин», «Оксилизин», «Цитруллин»
— — в автотропных организмах 94
— — — альбуминоидах 65, 367
— — — аллергене 100, 105
— — — арахине 375
— — — белках дрожжей и плесеней 103
— — — — животного происхождения 67, 367
— — — — крови 68 и сл., 367
— — — — муки кровяной 81
— — — — сыворотки и плазмы собаки 72
— — — — патологической человека 72
— — — — животных кроме человека и собаки 73
— — — — листьев 97, 372
— — — — металлсодержащих 87
— — — — мозга 75, 76, 77, 371
— — — — молока 88 и сл., 370
— — — — мочи 72
— — — — мышц 92

Основные аминокислоты в белках рыб 93
— — — — овса и риса 102, 373
— — — — отходах салотопного производства 81
— — — — печени 87, 371
— — — — пшеницы 374 (кроме глиадина 98)
— — — — растительного происхождения 94 и сл., 372 и сл.
— — — — тканей 106, 371
— — — — яиц 78 и сл., 368
— — — бобах 101
— — — вирусах 99, 372
— — — воде, клеевой 81
— — — волосе 369
— — — глиадине 96, 374
— — — глицинине 374
— — — глютине 372, 374
— — — гордеине 101
— — — гормонах 81, 369, прессорных 82
— — — горохе 101
— — — губке 86
— — — желатине 65, 367
— — — железах, смешанных 371
— — — зеине 104, 372
— — — инсулине 369
— — — кератинах 85, 369
— — — клещевине 101
— — — коже 83
— — — коллагене 66
— — — кораллах 66, 86
— — — кукурузе 373 (кроме зеина 95)
— — — лактальбумине 90, 370
— — — β-лактоглобулине молока и казеинового гидролизата 91, 370
— — — лупине, муке 80
— — — люцерне 80
— — — муке из земляного ореха 373
— — — льняного семени 373
— — — хлопкового семени 373
— — — нейрокератинах 83
— — — пепсине 369
— — — пере 369
— — — пищевых продуктах и кормах 80, 368
— — — рисе 373
— — — рицине 374
— — — роге 369
— — — соевой муке 373
— — — тироглобулине 369
— — — травах 98, 372
— — — тыкве 10
— — — ферментах 81, 369, 372
Основные аминокислоты в фиброине шелка 86, 369
— — — хлебе 374
— — — эдестине 96, 374
— — — эластине 66, 367
— — выделение и разделение 13
— — — — групповое 36
— — — — методом Айри, видоизменение 32
— — — — — Блока (микрометод) 23
— — — — — Викери и Блока видоизменения 22
— — — — — — и Ливенуортса 18, 21
— — — — — Косселя и Кучера 13
— — — — — — и Прингля, видоизменение 17
— — — — — — и Истаудта 17
— — — — — Муро и Гоффера 33
— — — — — Осборна, Ливенуортса и Брутлехта видоизменение 17
— — — — — Тристрама, видоизменение 32
— — — — — Турба 44
— — — — осаждением фосфорновольфрамовой кислотой 36
— — — — селективной адсорбцией 43
— — — — электрофорезом 12
— — потребность в них человека 377, 378
Отруби желтой кукурузы 174
— содержание ароматических аминокислот 180
— — лейцина, изолейцина и валина 299
— — β-оксиаминокислот 213
— — основных аминокислот 95, 99
— — серы и серусодержащих аминокислот 255
Отщепляемая сера 189

П

Панкреас, содержание ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Пахтанье 156
Пентабромацетон
— отделение 314
Пепсин
— приготовление для анализа 158, 159

Пепсин, содержание аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 157, 158
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317
— — β-оксиаминокислоты 270
— — основных аминокислот 81, 82
— — серусодержащих аминокислот 233
Перегонка
— фракционированная эфиров аминокислот 353
— разделение лейцина 276
Перекись водорода, окисление оксипролина 344
Периодат
— окисление 62, 263
— метод определения серина 266
— — — треонина 265
Периодная кислота 263
Перманганатное окисление 285
Пермутит 53
Перья
— содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 160
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317
— — лейцина, изолейцина и пролина 297
— — оксипролина и пролина 347
— — серы и серусодержащих аминокислот 237
Печень
— содержание аланина и глицина 335
— — аминокислот 371
— — ароматических аминокислот 162, 371
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318, 371
— — β-оксиаминокислот 271, 371
— — основных аминокислот 87, 371
— — серусодержащих аминокислот 239, 371
Пивные дрожжи, см. «Дрожжи»
Пикриновая кислота, очищенная по Бенедикту 24
Пиперазин и нитропруссид натрия, реакция на ацетальдегид 323
Пиридин-серная кислота 44
Пирролидонкарбоновая кислота
— — определение глютаминовой кислоты 309
— — экстракция 305, 310
Пищевые продукты, см. также «Молоко», «Соевые бобы», «Хлеб», «Яйца»
— — содержание аминокислот 367, 374
— — — — в белках пшеницы 374
— — — ароматических аминокислот 155
— — — лейцина, изолейцина и валина 296
— — — β-оксиаминокислот 273
— — — основных аминокислот 80
— — — серусодержащих аминокислот 231
Плесень
— содержание ароматических аминокислот 181
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 103
Подсолнечник
— содержание аланина и глицина в глобулине 337
— — оксипролина и пролина в глобулинах семян 349
Полиаминокислоты и поликарбоновые аминокислоты, разделение при помощи ионных обменивателей 360
Полярографический метод определения
— — — метионина и гемоцистина 216
— — — цистина 207
Почки
— содержание ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — оксипролина и пролина 348
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Проба Косселя 19, 28
Пролин
— аналитические результаты 345
— в автотропных организмах 348
— — альбуминоидах 346
— — белках животного происхождения 346 и сл., 367 и сл.
— — — пшеницы 349, 374
— — — растительного происхождения 348 и сл., 372 и сл.
— — биологически активных веществах 346, 348
— — вирусах 373

Пролин в волосе 370
— — глиадине 374
— — глобулинах семян 375
— — глютине 374
— — желатине 362, 367
— — зеине 372
— — кератинах 347, 370
— — крови 346, 367
— — кукурузе 349, 372
— — молоке 347, 370
— — мышцах 348, 371
— — рицине 375
— — ферменте, желтом 373
— — фиброине шелка 370
— — шерсти 362, 370
— — эдестине 375
— — эластине 367
— — яйцах 346, 347, 368
— выделение 338
— — в виде бетаина 341
— — — медной соли 341
— — методом Дакина, изложенным Фюртом и Миннибеком 339
— — колориметрическим 345
— — осаждением рейнекатом аммония 339
— — прямой экстракцией растворителем 338
— — роданилатом пролина 341
— — фишеровским методом фракционированием эфиров 338
— молекулярный вес 338
— оптическая форма 338
— содержание азота, кислорода, водорода, углерода 338
— точка плавления 338
— эмпирическая формула 338
Протамины 13
— содержание аргинина 106
— — гистидина 106
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — лизина 106
— — оксипролина и пролина 348
Псевдокератины
— содержание β-оксиаминокислот 271
— — серусодержащих аминокислот 239
Пшеница
— содержание аланина и глицина 337
— — аминокислот 374
— — ароматических аминокислот 173, 374
— — — — в белках, кроме глиадина 179, 183
Пшеница, содержание глютаминовой и аспарагиновой кислот, 320, 321, 374
— — лейцина, изолейцина и валина 301, 374
— — β-оксиаминокислот в белках 274, 374
— — оксипролина и пролина 349, 374
— — основных аминокислот 105, 374, кроме глиадина 98
— — серусодержащих аминокислот 248, 374
— — — — в белках 257, кроме глиадина 255

Р

Ракообразные
— содержание аланина и глицина 335
— — ароматических аминокислот 170, 171
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — лейцина, изолейцина и валина 298
— — основных аминокислот 73
— — серусодержащих аминокислот 246
Рейнекаты, разложение 340, 341
Рейнеке, кислота 341
— соль 338
Рибонуклеаза, содержание основных аминокислот 82
Рис
— содержание аминокислот 373
— — ароматических аминокислот 178, 183, 373
— — β-оксиаминокислот 274
— — основных аминокислот 102, 105
— — серусодержащих аминокислот 254, 373
Рицин
— содержание аминокислот 374, 375
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320
— — лейцина, изолейцина и валина 301
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 101
— — серусодержащих аминокислот 248
Рог
— содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот 369
— — ароматических аминокислот 160, 370

Рог, содержание глютаминовой и аспарагиновой кислот 318, 370
— — лейцина, изолейцина и валина 296, 370
— — β-оксиаминокислот 271, 370
— — оксипролина и пролина 347, 370
— — основных аминокислот 84, 85, 369
— — серусодержащих аминокислот 237
Роданилат, пролин 341
Роданиловая кислота 341
Рожь, содержание основных аминокислот в многолетней ржи 98
— — серусодержащих аминокислот 252
Ртути ацетат (осаждение аминокислот) 355
Ртути карбаматы (осаждение аминокислот) 355
Ртути соли азотной, азотистой кислоты, реакция тирозина 111
— сульфат 16, 119, 123, 124, 284
— хлорид 56
Рыбы
— потребление 378
— содержание аланина и глицина в сельди и треске 335
— — аминокислот 368
— — аргинина, гистидина и лизина в желатине 66
— — ароматических аминокислот
— — — — в белках мышц 170
— — — — — желатине рыбы 139, 156, 157
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 234
— — β-оксиаминокислот в желатине 270
— — оксипролина и пролина в мышцах 348
— — основных аминокислот 85, 93
— — серусодержащих аминокислот 219, 246

С

Салициловый альдегид 282, 284, 285
Сальмин, содержание аргина 50
Сандстрома и Лилливика метод приготовления фталевого диальдегида 325
Свекла, ботва
— — содержание ароматических аминокислот 176
— — основных аминокислот 97
— — — серусодержащих аминокислот 251
Свинца тетраацетат, определение треонина 260, 261
Свинья, основные аминокислоты в белках мозга 77
Секретин
— содержание ароматических аминокислот 158
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317
— — оксипролина и пролина 346
— — основных аминокислот 82
— — серусодержащих аминокислот 233
Селезенка, содержание ароматических аминокислот
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Сельдь см. «Рыбы»
Семена
— содержание аминокислот в глобулинах 374
— — — в белках 373
— — ароматических аминокислот в белках 183
Семенники
— содержание аминокислот 368
— — ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 105
— — серусодержащих аминокислот 258
Сера, восстановление в определении цистеина 209
Сердце, содержание ароматических аминокислот 184
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — β-оксиаминокислот в мышце 372
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Серебро, окись 18
— уксуснокислое 33
Серебряных солей метод 50
Серин 259, 266, см. также «β-Оксиаминокислоты»
— в альбуминоидах 367

Серин в белках животного происхождения 367 и сл.
— — — пшеницы 374
— — — растительного происхождения 372
— — — тканей 371
— — глобулинах и белках семян 373, 375
— — кератинах 370
— — крови 367
— — молоке 370
— — травах, листьях, вирусах, дрожжах 373
— — яйцах 368
— гидролиз 259
— история вопроса 266
— молекулярный вес 259
— определение 266
— — окислением специфическими окислителями 266
— — методом Бойда 267
— — — периодатным Николе и Шинна 266
— — — разные 269
— оптическая форма 259
— содержание азота, водорода, кислорода, углерода 259
— точка плавления 259
— эмпирическая формула 259
Серицин шелка, содержание β-оксиаминокислот 271
Серусодержащие аминокислоты 185, 218 и сл., см. также «Метионин», «Цистеин», «Цистин»
— — в автотропных организмах 247
— — — альбуминоидах 219
— — — арахине 374
— — — белках животного происхождения 220, 244 и сл., 367 и сл.
— — — — кукурузы 248, 249, 372
— — — — листьев 251, 373
— — — — металлсодержащих 240
— — — — мозга 228, 371
— — — — молока 240 и сл., 370
— — — — мочи 226
— — — — мышц 244 и сл., 371
— — — — печени 239, 371
— — — — пшеницы 374
— — — — кроме глиадина 255
— — — — растительного происхождения 247 и сл., 372 и сл.
— — — — семян 373, 374
— — — — тканей 258, 371
— — — — травы 252, 372
— — — — яиц 228, 229, 368
Серусодержащие аминокислоты в биологически активных веществах 248
— — — волосе 234, 370
— — — вирусах 254, 373
— — — гемоцианине 240
— — — гемэрегрине 240
— — — глиадине 250, 374
— — — глицинине 374
— — — глобинах 222, 223
— — — глютине 372, 374
— — — гормонах и ферментах 232, 233, 369
— — — дрожжах 255, 256, 372
— — — желатине 219, 367
— — — железах смешанных 371
— — — зеине 256, 372
— — — инсулине 369
— — — казеине 370
— — — каучуке 254
— — — кератинах 234 и сл., 370
— — — кормах и пищевых продуктах 231, 232, 367
— — — крови 221 и сл., 367
— — — лактоальбумине 242, 370
— — — β-лактоглобулине 370
— — — муке из земляного ореха 373
— — — — льняного семени 373
— — — — хлопкового семени 373
— — — — сои 373
— — — овсе 373
— — — пепсине 369
— — — пере 370
— — — псевдокератинах 239
— — — рисе 373
— — — рицине 375
— — — роге 370
— — — тироглобулине 369
— — — ферритине 240
— — — желтом 373
— — — ферментах 332, 333, 369
— — — фиброине шелка 370
— — — цитохроме 240
— — — шерсти 37
— — — — овечьей 234, 235
— — — эдестине 249, 250, 375
— — — эластине 219, 367
— — потребность 377 и сл.
Слюнные железы
— — содержание ароматических аминокислот 104
— — — β-оксиаминокислот 272
— — — основных аминокислот 106
— — — серусодержащих аминокислот 258

Соя
— содержание аминокислот в муке 373
— — ароматических аминокислот 155
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 373
— — лейцина, изолейцина и валина 301, 373
— — β-оксиаминокислот 273, 373
— — оксипролина и пролина 349, 373
— — основных аминокислот 80, 101, 105, 373
— — серусодержащих аминокислот 232, 253, 373
Спектрофотометрический метод для тирозина и триптофана 129 и сл.
Спонгин
— содержание аланина и глицина 334
— — ароматических аминокислот 161, 162
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 318
— — лейцина, изолейцина и валина 237
— — основных аминокислот 86
— — серусодержащих аминокислот 238
Стахидрин 341
Сульфаниловая кислота 55

Т

Табак, содержание аланина и глицина в вирусе 336
— — ароматических аминокислот 179
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — β-оксиаминокислот 272
— — оксипролина и пролина 272
— — серусодержащих аминокислот в мозаике 254
Танре реактив 47
Теленка мышцы, содержание β-оксиаминокислот 272
Тимол 122
Тимофеевка, содержание основных аминокислот 98
Тимус
— содержание ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
Тимус, серусодержащих аминокислот 258
Тироглобулин, содержание аминокислот 269
— — ароматических аминокислот 158, 159
— — основных аминокислот 82, 83
— — серусодержащих аминокислот 233
Тирозин 107, 111, см. также «Ароматические аминокислоты»
— анализ, примечание 130
— в белках животного происхождения 367
— — — пшеницы 374
— — — растительного происхождения 374
— — — семян 373
— — — тканей 371
— — гормонах и ферментах 369
— — желатине 367
— — кератинах 369
— — кормах и пищевых продуктах 368
— — крови 317
— — кукурузе 372
— — молоке 370
— — тироцидине 362
— — хлебе 374
— — шерсти 362
— — эластине 367
— — яйцах 367
— гидролиз 107
— определение 111, см. также «Триптофан».
— — диазореакцией 113
— — Ханке применение реакции Паули 113
— — изоэлектрическим осаждением 111
— — — — Нассе 127
— — с нитрозонафтолом в азотной кислоте 114
Тироксин 107, 136, см. также «Ароматические аминокислоты»
— определение по Блау 136
— — — Лаггу 137
— — химическим методом 136
Тироцидин
— содержание аланина и глицина 336
— — аминокислот 362
— — ароматических аминокислот 172, 173
— — аспарагиновой и глютаминовой кислот 320, 362
— — изолейцина и валина 301, 362

Тироцидин, содержание лейцина 301
— — оксипролина и пролина 348
— — метионина 362
— — триптофана 362
Титана окись, разделение аминокислот 360
— хлорид 202
Титрование по методу Попа и Стивенса 352
Травма, содержание ароматических аминокислот в белках мозга 149
— — основных аминокислот в белках мозга 75
Травы, содержание аминокислот 372
— — ароматических аминокислот 176, 183, 372
— — оксипролина и пролина 348, 372
— основных аминокислот 97, 105, 372
— — серусодержащих аминокислот 251, 257, 372
Треонин 259, 260, см. также «Оксиаминокислоты»
— в альбуминоидах 367
— — белках животного происхождения 367
— — пшеницы 374
— — — семян 373
— — — тканей 371
— — вирусах 373
— — гормонах и ферментах 369
— — дрожжах 373
— — кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 368
— — крови 367
— — кукурузе 372
— — молоке 370
— — травах, листьях 373
— — хлебе 374
— — яйцах 368
— гидролиз 259
— история вопроса 260
— молекулярный вес 259
— определение его
— — методом Цинника 265
— — окислением специфическими окислителями 260
— — периодатным методом Шинна и Николе 263
— — периодатом и *п*-оксидифенилом 265
— — тетраацетатом свинца 260, 261
— оптическая форма 259
— потребность 377 и сл.
Треонин, содержание азота, водорода, кислорода, углерода 259
— точка плавления 259
— эмпирическая формула 259
Триоксалатохромиат 323
Трипсин
— содержание ароматических аминокислот 158
— — β-оксиаминокислот 270
— — основных аминокислот 83
Трипсиноген
— содержание ароматических аминокислот 158
— — основных аминокислот 82
Триптофан 17, 107, 114, см. также «Ароматические аминокислоты»
— анализ, примечание 130
— в альбуминоидах 367
— — белках пшеницы 374
— — — семян 373
— — — тканей 371
— — гормонах и ферментах 369
— — грамицидине 362
— — кератинах 370
— — кормах и пищевых продуктах 368
— — крови 367
— — кукурузе 372
— — молоке 370
— — растениях 372
— — тироцидине 362
— — травах, листьях, дрожжах и вирусах 372
— — хлебе 374
— — яйцах 368
— гидролиз 107
— определение и выделение 115, 129, см. также «Тирозин»
— — альдегидной реакцией 117, 120
— — глиоксиловой реакцией 115
— — колориметрическими реакциями 121, 122
— — методом Бетса 120
— — — Блока и Боллинга 124, 128
— — — Комма 119
— — — Крауса 118
— — — Миллона—Нам 127
— — — Миллона и Фолина 123
— — — Мэйя и Рауза 118
— — — Салливана, Миллона и Эверита 120
— — — спектрофотометрическим 129
— — — Томаса 118
— — — Томияма и Шигематсу 119
— — — Фолина и Маронци 123

Триптофан, методом Шо и Макфарлена 116
— — — Брайса видоизменения 116
— — — Винклера видоизменения метода Гопкинс—Коле 116
Тыква (семя) содержание основных аминокислот 101

У

Углеводы
— потери аргинина в присутствии углеводов 34
— реакции 364
— реакция Дише, Гурина и Гуда 364
— — Паули и Людвига 364
— метод Элсона и Моргана 365
— смеси с аминокислотами 36
Уголь 50, 197, 216, 266, 342, 359
— разделение аминокислот на активированном угле 359
Уреаза 48, 49

Ф

Фенилаланин 107, 132, см. также «Ароматические аминокислоты»
— в альбуминоидах 367
— — белках животного происхождения 367
— — — растительного происхождения 372 и сл.
— — — — семян 373
— — — — тканей 371
— — глобулинах семян 374, 375
— — гормонах 369
— — желатине 362
— — кератинах 369, 370
— — кормах и пищевых продуктах 368, 369
— — крови 367
— — кукурузе 372
— — молоке 370
— — пшенице 374
— — ферментах 369
— — шерсти 362
— — яйцах 368
— выделение 132
— гидролиз 107, 109
— определение 132
— — нитрованием и восстановлением по Капеллер—Адлер—Купа 133
Фенилаланин, методом Блока и Боллинга 135
— — — Купа и Денюэля 134
— — окислением до бензойной кислоты 133
Фенилмолочная кислота 135
Фенольный реагент 123
Ферритин
— содержание аланина и глицина 335
— — ароматических аминокислот 163
— — основных аминокислот 87
— — серусодержащих аминокислот 240
Ферменты
— содержание аланина и глицина 336
— — аминокислоты 369, 372
— — ароматических аминокислот 157, 158, 173, 369
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 319, 369
— — β-оксиаминокислоты 270, 369
— — оксипролина и пролина 349
— — основных аминокислот 81, 82, 369
— — серусодержащих аминокислот 232, 248, 369
Фибрин, см. «Кровь»
Фиброин (шелка)
— содержание аланина и глицина 334, 335
— — аминокислот 369, 370
— — ароматических аминокислот 161
— — лейцина, изолейцина и валина 297
— — β-оксиаминокислот 271
— — оксипролина и пролина 347
— — основных аминокислот 86
«Фильтроль-Нейтрол», белящие земли, 44
Фишеровский метод разделения эфиров аминокислот 353
Флавиановая кислота, осаждение аргинина 49
Флоридин 44
Фолина метод с сернокислой ртутью 124 и сл.
Формальдегид, окисление в формальдегид специфическими агентами 266
Фосфовольфраматы аминокислот, влияние температуры на растворимость 38
— поправки на растворимость 37

Фосфорновольфрамовая кислота 126, 190
— — влияние температуры на растворимость 38
— — восстановление 190
— — осаждение 32, 36, 39
— — переосаждение 62
— — разложение 41
— фосфорномолибденовая кислота, смесь 123, 126, 195
Фосфорно-18-вольфрамовая кислота 190, 191
Фосфорно-24-вольфрамовая кислота 14, 40, 277
Фотоэлектрический колориметр 196
Фракционирование
— аминокислот 357
— ацетильных производных лейцина, изолейцина и валина 279
— карбаматов бария 356
— карбамидов кислот 356
— солей меди 356
Фракционированная перегонка 353
Фталевый диальдегид, реакция Циммермана 325
Фуллерова земля 44
Фумаровая кислота, превращение в нее аспарагиновой 315

Х

Химотрипсиноген
— содержание ароматических аминокислот 158, 159
— — β-оксиаминокислот 271
— — основных аминокислот 82
— — серы и серусодержащих 233
Хондрус (Chondrus—ирландский мох), серусодержащие аминокислоты в нем 247
Хроматографическая адсорбция в разделении аминокислот 359
Хроматографический метод для жидкости 280
Хроматография распределительная 361
Хромовой кислотой окисление при определении лейцина и валина 281
Хромотроповая кислота 268
Хлеб, обогащенный 377
— содержание аминокислот 374
— — аргинина 374
— — ароматических аминокислот 155
— — валина 374
— — гистидина 374
— — лизина 374
Хлеб, лейцина, изолейцина и валина 300, 374
— — метионина 374
— — β-оксиаминокислоты 273
— — основных аминокислот 30, 374
— — серы и серусодержащих аминокислот 231
— — тирозина 374
— — треонина 374
— — триптофана 374
— — фенилаланина 374
— — цистина 374
— суточная потребность 377, 378
Хлебные дрожжи см. «Дрожжи»
Хлопковое семя
— — содержание аланина и глицина 336, 337
— — — аминокислот 373, 375
— — — ароматических аминокислот 177
— — — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 375
— — — лейцина, изолейцина и валина 300, 375
— — — β-оксиаминокислот в глобулине 273, 375
— — — оксипролина и пролина 349, 375
— — — основных аминокислот 100, 105, 374
— — — серусодержащих аминокислот 232, 248, 253, 375
Хрусталик
— содержание аланина и глицина 335
— — ароматических аминокислот 139
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 319
— — лейцина, изолейцина и валина 298

Ц

Цвет 280
Цеолит 309
Церия сульфат 331
Цианпропионовая кислота
— — гидролиз 311
— — экстракция 311
Цинк щелочно-свинцовый метод определения цистина 189
Цистеин, 185, см. также «Серусодержащие аминокислоты»
— гидролиз 185
— молекулярный вес 185

Цистеин, определения 188
— — методом газометрическим 207
— — — восстановления фосфорновольфрамовой кислоты 190
— — — серы 209
— — реакцией иодоацетатной 209
— — — иодозобензойной 210
— — — нитропруссидной 208
— — конденсацией 205
— — осаждением 201, 203
— эмпирическая формула 185
Цистин 17, 21, 185, 188, см. также «Серусодержащие аминокислоты»
— содержание в альбуминоидах 367
— — в белках животного происхождения 367
— — — — пшеницы 374
— — — — растительного происхождения 247 и сл., 372 и сл.
— — — — тканей 371
— — — глобулине семян 374
— — — гормонах и ферментах 369
— — — кератинах 369
— — — кормах и пище 368
— — — крови 367
— — — кукурузе 372
— — — молоке 370
— — — травах, листьях, дрожжах, вирусах 372
— — — хлебе 374
— — — яйцах 368
— выделение из медной соли 201
— гидролиз 185
— гидролизующие агенты 187
— молекулярный вес 185
— определение, 188
— — методом Блока и Боллинга 196
— — — восстановления фосфорновольфрамовой кислоты 190
— — — газометрическим 207
— — — Лагга 192
— — — полярографическим 207
— — — Ролина и Люнэй 190
— — — — и Маренци 191
— — — Салливана 192
— — — Томпсета 192
— — — Шинохара 195
— — прямым окислением 215
— — титрованием иодом 196—198
— оптическая форма 185
— содержание азота, водорода, кислорода, серы 185
— точка плавления 185
— эмпирическая формула 185
Цитохром С
— содержание ароматических аминокислот 163
— — глютаминовой и аспарагиновой 319
— — основных аминокислот 88
— — серусодержащих аминокислот 240
Цитратный буфер 59, 193
Цитруллин 13, 63, см. также «Основные аминокислоты»
— молекулярный вес 13
— определение 63
— оптическая форма 13
— процентный состав 13
— формула 13
— электролитическое разделение 42
Цыплята
— содержание аланина и глицина 333, 335
— — ароматических аминокислот 140, 169
— — глютаминовой и аспарагиновой 319
— — β-оксиаминокислот 272
— — оксипролина и пролина 348
— — основных аминокислот 67, 92
— — серы и серусодержащих аминокислот 245

Ч

Черепаха морская
— — содержание ароматических аминокислот 245
— — — основных аминокислот 92
— — — серусодержащих аминокислот 161

Ш

Шаудури метод приготовления ортофталевого диальдегида 326
Шерсть
— содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот 362, 369, 370
— — ароматических аминокислот 160, 370
— — валина 296
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 370
— — изолейцина 296, 362
— — лейцина 296, 362
— — метионина 362

Шерсть, оксипролина и пролина 347
— — основных аминокислот 84, 369
— — пролина 362, 370
— — серусодержащих аминокислот 234, 235, 239
— — тирозина 362
— — фенилаланина 362, 370
Шпинат
— содержание ароматических аминокислот 176
— содержание основных аминокислот 97

Щ

Щавелевая кислота 351
Щенята, содержание основных аминокислот в белках мозга 77

Э

Эдестин
— содержание аланина и глицина 337
— — аминокислот 375
— — аргинина 50, 96
— — ароматических аминокислот 174, 183, 374
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 320, 375
— — лейцина, изолейцина и валина 300, 375
— — оксипролина и пролина 349, 375
— — основных аминокислот 96, 104
— — серусодержащих аминокислот 249, 375
Эластин
— содержание аланина и глицина 333
— — аминокислот 367
— — ароматических аминокислот 139, 367
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 316, 367
— — лейцина, изолейцина и валина 294, 367
— — β-оксиаминокислот 270, 367
— — оксипролина и пролина 346, 367
— — основных аминокислот 66, 367
— — серусодержащих аминокислот 219, 367
Электродиализ, разделение аминокислот 42, 43
Этерификация аминокислот, метод 353, 354
— разделение лейцинов 276
Этилметилкетон, определение 285, 287
Эфир
— выделение гликоколя 322
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 304
— — пролина и оксипролина 338
— гидрохлоридный метод определения лейцинов 276
— метод Фишера разделения аминокислот 353
Эукератины
— содержание ароматических аминокислот 159
— — β-оксиаминокислот 271
— — основных аминокислот 84
— — серусодержащих аминокислот 237

Я

Ягненок
— содержание ароматических аминокислот в белках мышц 169
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 92
— — серусодержащих 245
Янтарная кислота 313
— — гидролиз 311
— — Гэпферта микрометод 312
— — окисление глютаминовой кислоты до янтарной 310
— — определение и экстракция 312
Яичники
— содержание ароматических аминокислот 184
— — β-оксиаминокислот 272
— — основных аминокислот 106
— — серусодержащих аминокислот 258
Яйцо
— потребление 368
— содержание аланина и глицина 334
— — аминокислот в альбумине 153, 154, 228, 270, 295
— — — — белке 79, 154, 269, 317, 368
— — — — желтке 79, 154, 230, 368
— — — — вителлине 153, 230, 270, 295, 334, 347, 368
— — ароматических аминокислот в белках 152, 153, 154, 161
— — глютаминовой и аспарагиновой кислот 317, 318
— — лейцина, изолейцина и валина 295, 368
— — овомукоида 154, 230

Яйцо, β-оксиаминокислоты 270, 328
— — оксипролина и пролина 346, 347, 368
— — основных аминокислот 78, 79, 185
— — серусодержащих аминокислот 224, 228, 229
Яйцо, подскорлуповая перепонка
— содержание ароматических аминокислот 160
— — лейцина, изолейцина и валина 396
— — серусодержащих аминокислот 237

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

Предисловие редактора 5
Предисловие автора 7
Введение 9

Глава I. ДИАМИНОКИСЛОТЫ: АРГИНИН, ГИСТИДИН, ЛИЗИН, ОКСИЛИЗИН И ЦИТРУЛИН 13

Раздел 1. Выделение основных аминокислот 13
Раздел 2. Прямое определение аргинина 45
Раздел 3. Прямое определение гистидина 54
Раздел 4. Прямое определение лизина 59
Раздел 5. Определение оксилизина 61
Раздел 6. Определение цитрулина 63
Раздел 7. Содержание основных аминокислот в белках 64

Глава II. АРОМАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ: ТИРОЗИН, ТРИПТОФАН, ФЕНИЛАЛАНИН, ДИИОДТИРОЗИН И ТИРОКСИН 107

Раздел 1. Гидролиз 107
Раздел 2. Определение тирозина 111
Раздел 3. Определение триптофана 114
Раздел 4. Определение тирозина и триптофана 123
Раздел 5. Определение фенилаланина 132
Раздел 6. Химические методы определения диоксифенилаланина, дииодтирозина и тироксина 136
Раздел 7. Содержание ароматических аминокислот в белках . . . 137

Глава III. СЕРУСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ: ЦИСТИН, ЦИСТЕИН И МЕТИОНИН 185

Раздел 1. Гидролиз 185
Раздел 2. Определение цистина и цистеина 188
Раздел 3. Определение метионина и гомоцистина 211
Раздел 4. Сера и серусодержащие аминокислоты в белках . . . 218

Глава IV. β-ОКСИАМИНОКИСЛОТЫ: СЕРИН И ТРЕОНИН 259

Раздел 1. Гидролиз 259
Раздел 2. Определение треонина 260
Раздел 3. Определение серина 266
Раздел 4. Содержание β-оксиаминокислот в белках 269

Стр.

Глава V. „ЛЕЙЦИНЫ“: ЛЕЙЦИН, ИЗОЛЕЙЦИН И ВАЛИН 275

Раздел 1. Введение 275
Раздел 2. Определение лейцина, изолейцина и валина 276
Раздел 3. Содержание лейцина, изолейцина и валина в различных белках 293

Глава VI. ДИКАРБОНОВЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ: АСПАРАГИНОВАЯ И ГЛЮТАМИНОВАЯ КИСЛОТЫ 303

Раздел 1. Гидролиз 303
Раздел 2. Аспарагиновая и глютаминовая кислоты 304
Раздел 3. Определение глютаминовой кислоты 309
Раздел 4. Определение аспарагиновой кислоты 314
Раздел 5. Аналитические результаты 316

Глава VII. ГЛИКОКОЛЬ И АЛАНИН 322

Раздел 1. Определение гликоколя 322
Раздел 2. Определение аланина 328
Раздел 3. Аналитические данные 332

Глава VIII. ПРОЛИН И ОКСИПРОЛИН 338

Раздел 1. Выделение и определение пролина и оксипролина . . 338
Раздел 2. Аналитические результаты 345

Глава IX. ОБЩИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ 350

Раздел 1. Гидролиз и приготовление образцов для анализа . . . 350
Раздел 2. Разделение аминокислот 353
Раздел 3. Реакции на углеводы 364

Глава X. СВОДНЫЕ ТАБЛИЦЫ 366

Глава XI. ПОТРЕБНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА В НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТАХ 376

Примечания переводчика 379
Примечания редактора русского перевода 380
Литература 414
Именной указатель 429
Предметный указатель 436

Редактор *Н. Халатова.*
Технические редакторы *А. Дронов* и *Б. Викторов.*
Корректоры *Б. Ерусалимский* и *Д. Броун.*

※

Сдано в производство 30/XII 1948 г.
Подписано к печати 9/VI 1949 г.
А-05902. Печ. л. $29^1/_2$. Уч.-издат. л. 34,2.
Формат $60 \times 92^1/_{16}$. Издат. № 3/125.
Цена 34 руб. Зак. № 4624.

※

4-я типография имени Евгении Соколовой
Главполиграфиздата при Совете Министров
СССР.
Ленинград, Измайловский пр., 29.

Тирозин по Виннику
фенилаланин по Капеллер-Адлеру

Тирозин можно определять изотопным методом
Гликокол изотопным
цистеин —
метионин — } изотопным

выделять методом карбаматным или триоксалато-хроматным

1161

27-20

Цена 34 р.

Р. БЛОК
И
Д. БОЛЛИНГ